Über vegetabilische Blutagglutinine.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medicinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

CARL LAU,

Assistenzarzt an der Universitäts-Frauenklinik.

ACAD. LUGD BAT. BIBL.

ROSTOCK.

Carl Boldt'sche Hof-Buchdruckerei.

1901.

Referent: Professor Dr. **Kobert.**

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit.

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Einleitung und Litteratur 7
II. Wirkung des Ricins auf Fischblut 20
III. Verschiedenheit der Crotinwirkung auf die einzelnen Blutarten 21
IV. Die Wirkung von Ricin und Abrin auf einige bis dahin noch nicht untersuchte Blutarten 24
V. Einiges über Robin (früher Robinin).
1. Robin als Agglutinin 27
2. Die toxischen Wirkungen des Robins 31
VI. Werden von den Agglutininen ausser den roten Blutkörperchen auch andere celluläre Elemente in specifischer Weise agglutiniert? 40
VII. Wirkung der Agglutinine auf gelöste Eiweissstoffe . . . 45
VIII. Geht durch Verdauung der Gifte das Agglutinationsvermögen verloren? 48
IX. Einfluss des Kochens auf die Wirksamkeit der Gifte . . 51
X. Sind dem Blute zugesetzte Gifte im Serum oder in den Blutkörperchen wiederzufinden? 53

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549202_0196

I. Einleitung und Litteratur.

Die Blutagglutinine, Substanzen, welche im defibrinierten, wie im undefibrinierten Blut eine Zusammenballung der roten Blutkörperchen bewirken, haben in neuerer Zeit das Interesse der Pharmakologen und Bakteriologen in hohem Masse erregt. So hielt erst im vorigen Jahre Professor Kobert vor der naturforschenden Gesellschaft zu Rostock hierüber einen mit Demonstrationen verbundenen Vortrag, der zu lebhafter Diskussion Anlass gab.

Die meisten Blutagglutinine sind chemisch bis jetzt noch nicht analysierte Eiweisssubstanzen; nur soviel ist sicher, dass diese zu den Albuminen bezw. Albumosen und zu den Globulinen gehören können. Durch feuchtes Erhitzen auf über 65° C. verlieren diese ihre Wirksamkeit; langsames, trocknes Erhitzen auf 100° C. schädigt sie jedoch oder wenigstens einen Teil derselben in ihrer Wirksamkeit nicht. Nach ihrer Herkunft muss man die Agglutinine in animalische, vegetabilische und mineralische, zu welcher Gruppe z. B. das kieselsaure Natrium[1] zu rechnen ist, einteilen. Wo von Agglutininen schlechtweg die Rede ist, sind meist nur die organischen gemeint.

Von den **animalischen** Blutagglutininen ist zu sagen, dass sie sich teils im normalen Blut des Menschen und

[1] A. Siegfried, Ein Beitrag zur Kenntnis des physiologisch-chemischen Verhaltens des kieselsauren Natriums etc. Inaug.-Dissertat., Rostock 1900, pag. 46.

der Säugetiere praeformiert finden, teils künstlich durch Immunisierung in bedeutenden Mengen im Blute der Versuchstiere erzeugt werden können. Spritzt man, wie dies früher häufig geschah, einem Menschen Hammelblut oder sonstiges Tierblut in die Adern, so werden die roten Blutkörperchen dieses Tierblutes zum Teil durch die normalen Agglutinine des Menschenblutes zur Verklebung und durch eine andere merkwürdige Klasse von Substanzen unseres Blutes, durch die Haemolysine, zur Auflösung gebracht. Injiziert man einem Tier systematisch monatelang immer grössere Mengen eines ihm fremden Blutes, so wird das Tier gegen dieses Blut immer widerstandsfähiger, so dass es schliesslich enorme Mengen dieses fremden Blutes zu vernichten im Stande ist. Aber diese blutkörperchenvernichtende Kraft des Blutes des immunisierten Tieres bezieht sich nur auf die eine ihm bis dahin eingespritzte Blutart. Sobald jetzt eine zweite Sorte Blut systematisch injiziert wird, entsteht ein zweites Agglutinin, welches nur auf diese zweite Blutart verklebend wirkt.

Auf die Eigenschaft des Blutserums von gegen fremdes Blut immunisierten Tieren die roten Blutkörperchen dieses fremden Blutes zu agglutinieren und aufzulösen, ist zuerst 1875 von Landois[1], der das Agglutinationsprodukt Stromafibrin nannte, und unabhängig von diesem von Bordet[2] hingewiesen worden. Er fand[3], dass das Serum von Meerschweinchen, denen defibriniertes

---

[1] Landois, Die Transfusion des Blutes; Leipzig 1875; pag. 160—161.

[2] Bordet, Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. Annales de l'Institut Pasteur 1898.

[3] Bordet, Centralblatt für innere Medicin. 1900, No. 47, pag. 1183.

Kaninchenblut einverleibt war, die Fähigkeit erlangte, die roten Blutkörperchen von Kaninchen zu agglutinieren. Dasselbe Verhalten konnten Ehrlich und Morgenroth auch für Ziegen und Hammel, ja sogar für 2 Einzelindividuen derselben Tierart feststellen. Bordet zeigte, dass in solchem Blutserum zwei Substanzen enthalten sind: die eine, welche die roten Blutkörperchen des fremden Blutes agglutiniert, und die andere, welche dieselben auflöst. Erhitzen auf 55—60° vernichtet das Auflösungsvermögen, lässt aber die agglutinierende Substanz intakt. Bordet glaubt, dass das Wesen der Agglutination der roten Blutkörperchen in Veränderung der Attraktionsbedingungen der die Agglutination erleidenden Partikelchen beruht. Gruber, der 1896 die Agglutination der Bakterien[1] durch Blutserum entdeckte, glaubt diese auf Veränderung und Klebrigwerden der äusseren Schicht der Bakterienleiber zurückführen zu müssen. Pfeiffer[2] und Bordet[3] bestreiten dies. Eine dritte Theorie stammt von Kraus[4]. Er nimmt die Entstehung eines Niederschlages in der Zwischenflüssigkeit, an und dieser Niederschlag reisse die Blutkörperchen mit nieder.

Sowohl Bordet als Ehrlich und Morgenroth[5] betonen, dass auch ohne vorherige Immunisation fremd-

---

[1] Gruber und Durham, Eine neue Methode zur raschen Erkennung des Choleravibrio und des Typhusbacillus. München. med. Wochenschr. 1896.

[2] Pfeiffer, Ein neues Grundgesetz der Immunität. Deutsche med. Wochenschr. 1896.

[3] Bordet, Sur le mode d'action des sérums preventifs. Annal. de l'Institut Pasteur 1896.

[4] Kraus, Über spezifische Reaktion in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus- und Pestkulturen etc. Wiener klin. Wochenschr. 1897.

[5] Ehrlich und Morgenroth, Über Haemolysine. Berliner klin. Wochenschr. 1899.

artige Blutarten auf einander im Sinne der Agglutination und Haemolyse einwirken; aber, wie Ehrlich richtig betont und Malkoff bestätigt, schwanken die agglutinierenden und haemolytischen Eigenschaften eines normalen Serums enorm, und zwar jede von beiden unabhängig von der anderen. Malkoff kommt zu folgenden Resultaten: 1) Die agglutinierende Eigenschaft der Sera rührt von bestimmten chemischen Substanzen, den Agglutininen, her. 2) Jedes Serum hat zu dem morphologischen Elemente, welches es zur Agglutination bringt, eine spezifische Bindungsaffinität, indem es nur von diesem und von nichts anderem gebunden wird. 3) In einem normalen Serum, das verschiedene Zellen gleichzeitig agglutiniert, existieren so viele verschiedene spezifische Agglutinine, als das Serum verschiedene Spezies von Zellen agglutiniert.

Landsteiner[1] stellte aus Rinderserum ein Agglutinin dar, welches auf Meerschweinchenblut stark verklebend wirkte, aber die Wirkung des nachher noch zu besprechenden Abrins auf beliebiges Blut hinderte. Hahn und Trommsdorff[2] ist es gelungen, sowohl durch $^1/_{100}$-Normalnatronlauge als auch durch $^1/_{100}$-Normalschwefelsäure aus den agglutinierten Bazillen das Agglutinin zu extrahieren. Pitfield[3] hat eine Agglutination der in physiologischer Kochsalzlösung suspendierten Spermatozoen durch das Blutserum fremder Tierarten nachgewiesen.

Gehen wir jetzt zu den vegetabilischen Blutagglutininen über!

---

[1] Landsteiner, Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. Bakt. Cbl. 1900, No. 10 u. 11.

[2] M. Hahn und R. Trommsdorff, Über Agglutinine. München. med. Wochenschr. 1900, No. 13.

[3] R. L. Pitfield, The peculiar agglutinative action of blood sera upon living spermatozoa. Lancet 1899, Ref. in Cbl. f. innere Med. 1900, No. 15, pag. 387.

Die **pflanzlichen** Agglutinine kannte man schon früher als die tierischen; sie wurden von Professor Kobert und seinen Schülern teils entdeckt (Ricin, Crotin), teils wenigstens erst von diesen Autoren als Agglutinine erkannt (Abrin). Schon 1887 beschrieb Stillmark[1] das giftige Pflanzeneiweiss **Ricin** und als seine Hauptwirkung diejenige, in defibriniertem und undefibriniertem Blut die roten Blutkörperchen zu verkleben und sie, zu Klümpchen geballt, zu Boden sinken zu lassen. Das Ricin wird dargestellt aus den Presskuchen von den Samen der Ricinuspflanze, Ricinus communis L. (Euphorbiaceae). Diese Presskuchen bleiben bei der Gewinnung des Ricinusöles übrig, welche hauptsächlich in Italien, Russland und Indien, sowie neuerdings auch in China und in den Vereinigten Staaten von Nordamerika betrieben wird. Wie enorm gross die Mengen von Ricinuspresskuchen sind, welche alljährlich in denjenigen Staaten, welche Ricinusöl produzieren, gewonnen werden, geht daraus hervor, dass z. B. allein Ostindien im Jahre 1894, einem Berichte eines pharmaceutischen Fachblattes zufolge, 90 Millionen kg Ricinuspresskuchen geliefert hat. Diese Ricinuspressrückstände sollen nach dem Bericht des amerikanischen Generalkonsuls in Kalkutta sogar als Viehfutter verwandt werden. Wenn auch diese Fütterung lediglich mit Ricinuspresskuchen wegen der grossen Giftigkeit — mag auch durch systematische Fütterung eine gewisse Immunität der Haustiere erreicht werden können — unglaublich erscheint und deshalb bestritten wird[2], so steht doch soviel fest, dass Colzaölkuchen und

[1] H. Stillmark, Über Ricin. Erweiterter und verbesserter Abdruck der 1887 erschienenen Dissertation in Arbeiten des pharmakol. Instituts zu Dorpat. Bd. III., 1889, Stuttgart. Enke.

[2] Kobert, Apotheker-Zeitung, 1900, No. 95, pag. 840.

Rapskuchen, ein vorteilhaftes Viehfutter, öfters mit Ricinuspressrückständen[1] verfälscht werden. Auf diese Weise sind sehr oft Vergiftungen, welche sich als heftige Magendarmentzündung zeigten, unter dem Vieh vorgekommen, die man sich oft garnicht zu erklären wusste. So berichtet z. B. Regenbogen[2] in der „Rundschau" über eine Vergiftung mit Leinsamenmehl, dem Pressrückstände von Ricinussamen beigemengt waren. Der Fall betraf 35 Pferde, nachdem ihrem Futter zum ersten Male ½ Pfd. Leinsamenmehl zugesetzt worden war. In Russland müssen die Presskuchen gleich nach ihrer Gewinnung in den Fabriken wieder vernichtet, d. h. als Heizmaterial verbrannt werden. Diese Einrichtung hat auf Antrag des Professor Kobert an die russische Regierung für Russland Gesetzeskraft erlangt und hat sich dort als äusserst wohlthätig erwiesen. Früher wurden auch in Russland diese Presskuchen teils als Düngemittel benutzt, teils (unerlaubter Weise) unter die Futterpresskuchen gemischt. Es wäre durchaus an der Zeit, das von Kobert vorgeschlagene Verfahren auch in Italien und Indien gesetzlich einzuführen. Natürlich würde es zulässig sein, die Kuchen, statt sie direkt zu verheizen, erst durch trockene Destillation in licht- und wärmegebende Stoffe (Heiz- und Leuchtgas) umzuwandeln. Ausführlicheres über Ricinus communis ist in der zitierten Stillmark'schen Arbeit zu finden.

Stillmark erschien die Darstellung des toxischen Prinzipes aus den Ricinussamen, des Ricins, durch solche chemischen Methoden, wie sie z. B. für Alkaloide und Glykoside passen, deshalb unpraktisch, weil die haupt-

[1] Pollet, Vergiftung des Viehes durch Ölkuchen. Chemiker-Zeit. 1894, No. 1.

[2] Apotheker-Zeitung 1889, No. 103, pag. 1388.

sächlich giftigen Stoffe des Ricinussamens unkrystallisierbar und chemisch schlecht erkennbar sind; er isolierte diese infolge dessen mit Hülfe pharmakologischer Methoden. Die grösste Ausbeute an Ricin erhielt Stillmark, wenn er folgende Darstellungsmethode anwandte, die von Sidney Martin[1] für gewisse Eiweissstoffe empfohlen worden war.

Stillmark extrahierte die vorher enthülsten und darauf fein zerriebenen Ricinussamen bei neutraler Reaktion mit 10% NaCl-Lösung und übersättigte das erhaltene Extract mit Magnesiumsulfat. Der entstehende Niederschlag wurde, nachdem er abgekühlt war, von den überschüssigen Magnesiumsulfatkrystallen mechanisch und von sonstigen Salzen durch Dialyse gereinigt und enthielt fast alles Ricin. Die Ausbeute an Ricin betrug bei dieser Gewinnungsmethode 2,8% der lufttrockenen, enthülsten Samen. Auf Veranlassung von Professor Kobert stellte die Firma E. Merck in Darmstadt das Ricin fabrikmässig dar, und brachte das allerdings aschehaltige, jedoch haltbare, wenn auch allmählich teilweise unlöslich werdende Präparat in den Handel. Man wird sich vielleicht wundern, dass dieses Handelspräparat so viel Asche enthält. Wenn man jedoch bedenkt, dass bei der sehr langen Dauer des Dialysierens fast immer Zersetzung und Fäulnis eintritt, so wird man Professor Kobert beistimmen, der den Vorschlag machte, das Präparat undialysiert in den Handel zu bringen, weil es in dieser Form sicher unzersetzt ist und weil jeder Käufer die Dialyse ja selbst noch vornehmen kann. Dieses käufliche Ricin Merck habe ich nach mehreren Selbstgewinnungsversuchen schliesslich als das wirksamere Präparat für alle meine Versuche über Ricinagglutination benutzt.

[1] Journal of Physiol. 5, pag. 213, und 6, pag. 336.

Einige Jahre später, im Jahre 1889, fand Kobert[1], dass das von Bruylants und Venneman 1884 in den Samen von Abrus precatorius entdeckte **Abrin** ebenfalls in sehr hohem Grade auf Blutkörperchen agglutinierend einwirkt, und hat dann mit seinem Schüler Hellin[2] eingehende Versuche darüber angestellt. Abrus precatorius, auch Jequirity genannt, ist eine in allen Tropenländern verbreitete Papilionacee, die schon im Mittelalter bekannt war. Die von Wecker in Paris 1882 beschriebene Wirkung der Abrussamen auf das Auge, die in einer akuten Entzündung der Conjunctiva besteht, und die dabei empfohlene Anwendung eines kalten Jequiritysameninfuses bei Pannus trachomatosus rief Hunderte von Publikationen in allen Weltteilen hervor. Diese Wirkung des Jequirityinfuses auf die Conjunctiva beruht, wie unabhängig von einander Warden und Waddell 1884, Neisser u. a. gezeigt haben, lediglich auf dem Abruseiweisskörper Abrin, der von Sidney Martin und Wolfenden 1889 in zwei chemisch verschiedene, aber pharmakologisch gleichwertig wirkende Eiweisskörper, ein Globulin und eine Albumose, zerlegt worden ist — und nicht etwa auf den sogenannten Sattler'schen Bakterien.

In Ceylon benutzte man, wie in Indien (Pendschâb), Abrus precatorius zum heimlichen Vergiften der Kühe, indem man aus dem Abrussamenbrei spitze Nadeln formte, die, hart getrocknet, den Kühen der verhassten Engländer in die Haut gestochen wurden[3]. Selbst wenn nur eine

[1] Kobert, Über Abrin. Sitz.-Ber. d. Dorpat. Naturforsch. Gesellsch. 1889, pag. 114.

[2] H. Hellin, Der giftige Eiweisskörper Abrin und seine Wirkung auf das Blut. Inaug.-Dissert. Dorpat 1891.

[3] American. Journ. of Pharmacy vol. 66, 1894, No. 11, pag. 530.

Spur dieser Paste in der Haut haften bleibt, muss das Tier sterben. Viele Jahre hindurch hat es gedauert, ehe die Engländer hinter dieses Geheimnis kamen.

Hellin benutzte zu seinen Versuchen meistenteils Abrin von Merck, während ich mir das toxische Prinzip der Jequiritysamen fast ausschliesslich in folgender Weise selbst herstellte: Die entschälten Abrussamen wurden in der Reibschale fein pulverisiert und darauf mit der 10fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung bei 35—37 ° C. durchschnittlich circa 12 Stunden extrahiert, worauf filtriert wurde. Das gewonnene Filtrat war sehr wirksam und lange haltbar, ohne an Wirkung einzubüssen.

Ein drittes pflanzliches Blutagglutinin fand Kobert 1895 in den Crotonsamen. Er hat es zusammen mit seinem Schüler Elfstrand[1] dargestellt und, nach Analogie von Ricin, Abrin als **Crotin** bezeichnet. Croton Tiglium L. ist eine an der Malabarküste einheimische Euphorbiacee. Der schon den Alten bekannte Name Croton bezieht sich im Altertum jedoch nicht auf unser Croton, sondern auf Ricinus. Die Samen werden fast ausschliesslich zur Gewinnung des stark abführend wirkenden Crotonöles benutzt, welches entweder durch Auspressen derselben oder durch Extraktion mittelst eines Lösungsmittels dargestellt wird. Aus den bei der Ölgewinnung nach ersterer Methode zurückbleibenden englischen Crotonsamen-Presskuchen konnte Professor Kobert das toxische Prinzip der Crotonsamen mit physiologischer Kochsalzlösung reichlich extrahieren, bei den Presskuchen der zweiten Methode jedoch, welche die Firma Fr. Witte in Rostock so liebenswürdig war, uns

[1] Elfstrand, Über blutkörperchenagglutinierende Eiweisse. Görbersdorfer Veröffentlich. I. 1898. Stuttgart. Enke.

in beliebiger Menge gratis zur Verfügung zu stellen, war die Ausbeute eine so geringe, mithin die Wirkung des Presskuchenextraktes eine so schwache, dass ich diese Art der Crotingewinnung bald aufgab. Es ist nicht unmöglich, dass die schwache Wirksamkeit der Witte'schen Pressrückstände nicht auf die Art der Behandlung zu beziehen ist, sondern damit zusammenhängt, dass dieselben von der blassen Varietät von Croton Tiglium stammen, die vielleicht an Crotin von Haus aus ärmer ist. Entölte ich nämlich gewöhnliche käufliche Crotonsamen selbst durch Extraktion mit Petroläther oder Äther, so war der entölte Brei reich an Crotin. Elfstrand gewann sein Crotin in der Weise, dass er die gewöhnlichen fein zerriebenen Crotonsamen des Handels mit Alkohol und Äther vom Crotonöl und anderen Substanzen, wie Alkaloiden und Glykosiden, befreite und den Rückstand mit der achtfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung extrahierte. Diese Extraktion lieferte ihm eine ziemlich reichliche Ausbeute an giftigem Eiweiss. Ich selbst habe öfters für meine Versuche die zerriebenen Samen nur mit zehnfacher Menge physiologischer Kochsalzlösung mehrere Stunden extrahiert, ohne sie vorher zu entfetten, und habe ein recht wirksames Extrakt erhalten. Für die meisten meiner Versuche jedoch habe ich das von E. Merck in Darmstadt dargestellte, käufliche Crotin verwendet.

Als viertes pflanzliches Blutagglutinin ist das **Robin** (früher **Robinin**) zu nennen, welches vor Jahren von Professor Kobert als solches erkannt, bis jetzt weder vom Entdecker noch von jemand anderem genauer als solches beschrieben worden ist. Power und Cambier[1] fanden einen als

[1] Power und Cambier, Pharmac. Journal and Transactions 1890, pag. 711.

Robinin bezeichneten Stoff zu 1,6 % in Form einer Phytalbumose in der Rinde der Robinia pseudacacia neben einem Alkaloid, welches Ähnlichkeit mit Cholin und Neurin hat. Ich möchte in ersterer Substanz unser Robin erblicken. Wie wenig man noch über das Robin oder Robinin weiss, geht schon daraus hervor, dass in der Toxikologie von R. v. Jaksch[1] geschrieben werden kann: „So soll die Rinde des Baumes auch eine Phytalbumose enthalten", und idem pag. 561: „Wie bereits erwähnt, soll der Locustbaum (Robinia pseudacacia) einen giftigen Eiweisskörper enthalten." Im Handbuch der Toxikologie von Kunkel[2] ist Robin bis jetzt überhaupt nicht erwähnt. Robinia pseudacacia (Papilionacee), bei uns falsche Akazie, Robinie, virginischer Eisenbaum und Schotendorn genannt, ist wissenschaftlich noch recht wenig untersucht worden. In der älteren Litteratur ist der Robinie in der Synopsis plantarum diaphoricarum von Rosenthal[3] genauer Erwähnung geschehen. Rosenthal schreibt dort: „Die Blüten waren früher als Flores Pseudoacaciae offizinell, da sie krampfwidrige Kräfte besitzen; auch wird daraus ein gelind abführender Syrup bereitet. Die Wurzelrinde ist süss und wurde als Surrogat der Süssholzwurzel empfohlen, erregt jedoch leicht Erbrechen und Durchfall, ja selbst bedenklichere Vergiftungen und wird nur in der Hauspraxis bei catarrhalischen Zuständen in Amerika bisweilen angewendet. Die etwas scharfen Samen liefern ein reichliches Öl und in Wasser maceriert vortreffliches Mehl; auch hat man sie

[1] Die Vergiftungen. Von Prof. v. Jaksch in Prag. Wien 1897. Hölder, pag. 4.

[2] Handbuch der Toxikologie von Prof. Kunkel in Würzburg. Jena. Fischer. 1899. I. Teil.

[3] Synopsis plantarum diaphoricarum von Rosenthal. Erlangen 1862.

als Kaffeesurrogat empfohlen.“ Dragendorff[1], der das Rosenthal'sche Buch umgearbeitet hat, bringt über die Robinie Folgendes: „Die Blätter enthalten Indican und einen giftigen Bestandteil, die frische Stammrinde ein dem Abrin und Ricin ähnliches Toxalbumin.“ Vergiftungen mit Robinienrinde, zumal des Viehes, sind ohne Frage nicht so sehr selten, wenn auch in der gesamten Litteratur nur folgende Vergiftungsfälle zu finden sind.

Zwei Robinienrinden-Vergiftungen giebt Lewin[2] wieder: „Drei Kinder kauten die Rinde der Robinia pseudacacia. Eine Stunde später erbrachen sie mehrfach, bekamen Schlaf, Stupor, erweiterte Pupillen, Krampfbewegungen; ein Kind war totenblass, hatte keinen Pulsschlag, livide Lippen, eingesunkene Augen und lag in Prostration mit Empfindungslosigkeit da. Stimulantien schafften Besserung. — Bei einer Massenvergiftung von 32 Knaben, welche die innere Rinde assen, traten ähnliche Symptome auf, die an Cytisinvergiftung erinnerten“.

Dieses sind die am Menschen beobachteten und veröffentlichten Robinienvergiftungen; Vergiftungen von Vieh sind folgende beschrieben worden: Wolberg[3] sah durch das Gift der Robiniarinde 7 Pferde erkranken, von denen 3 starben. Bei anderen Pferdevergiftungen beschreibt Zapel[4] die Symptome wie folgt: „Darniederliegen der Darmperistaltik bei geringer Auftreibung, ängstlicher, stierer Blick, starke Erhöhung der Puls- und Atemfrequenz, dunkelrothe Färbung der sichtbaren Schleimhäute, Schwäche im Hinterteil bis zur vollkommenen

[1] Die Heilpflanzen der verschiedenen Völker und Zeiten. Von Prof. G. Dragendorff. Stuttgart. Enke 1898. pag. 321.

[2] Lehrbuch der Toxikologie von Prof. L. Lewin in Berlin. II. Aufl. 1897. Wien u. Leipzig. pag. 283.

[3] Wolberg, Apoth.-Zeit. Jahrg. 90. No. 96. pag. 735.

[4] Zapel, Zeitschr. f. Vtkde., 1891, pag. 456 u. 1894, pag. 42.

Lähmung sich steigernd. Die Sektion ergab wässerigen Darminhalt, gerötete Darmschleimhaut, starkes Lungenödem, dunkles, wenig geronnenes Blut."

Nach dem Genusse von Robiniarinde starben 6 französische Militärpferde[1]. Ferner starben einem französischen Landmann[2] 3 Kühe in Folge Robinienvergiftung. Dies die Litteratur über Vergiftungen, welche wohl auf Robin beruhen dürften.

Sowohl für meine Blutversuche in vitro, wie auch für meine Vergiftungsversuche habe ich ausschliesslich das auf Veranlassung von Prof. Kobert in der chemischen Fabrik von E. Merck-Darmstadt hergestellte Robin verwandt.

Da Hura crepitans L. ebenso wie Ricinus und Croton eine Euphorbiacee ist, und da das in ihr enthaltene Hurin tötliche Magen- und Darmentzündung beim Meerschwein machen soll, so durfte man hoffen, in Hura crepitans vielleicht noch ein neues Blutagglutinin zu entdecken. Diese Hoffnung war jedoch eine trügerische. Weder aus dem frischen Hurasamen, noch aus dem Fleisch der frischen Hurafrucht[3] konnte ich ein Extrakt gewinnen, das auf Blutkörperchen agglutinierend oder auf Versuchstiere toxisch gewirkt hätte.

Ricin, Abrin, Crotin und Robin sind also bis jetzt die einzigen bekannten pflanzlichen Blutagglutinine.

Die Wirkung unserer vegetabilischen Blutagglutinine ist eine protoplasmaabtötende. Bei der Einwirkung auf die roten Blutkörperchen entsteht eine Verbindung des Agglutinins mit dem Farbstoff (Arterin) des sauerstoff-

[1] Progr. milit. 1893.

[2] Figaro v. 19. VIII. 1893.

[3] Das Kolonialmuseum in Harlem war so freundlich, uns die Droge frisch zu liefern. Herrn Professor Greshoff sage ich dafür meinen verbindlichsten Dank.

haltigen Blutes, und diese Verbindung ist klebriger Natur; es ballen sich daher die roten Blutkörperchen zu Klümpchen zusammen, fallen im Reagenzglase auf den Boden, und im zirkulierenden Blute müssen diese Blutkörperchenklumpen, falls sie in gleicher Weise entstehen, zur Verlegung der Capillaren führen. Laugt man diese Klumpen aus mit destilliertem Wasser, so entsteht eine Art Agglutininstroma (Stromafibrin von Landois), welches weniger quillt als das eigentliche Stroma.

Die vier pflanzlichen Agglutinine sind aber keineswegs mit einander identisch oder auch nur in ihrer Wirkung fast gleich. Während das Abrin auf die roten Blutkörperchen von allen bis jetzt untersuchten Blutarten der Säugetiere, Vögel und Kaltblüter agglutinierend einwirkt, und zwar selbst, wenn die Blutkörperchen durch 30—100fache Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung weit von einander abgerückt sind, ist der Wirkungskreis des Ricins doch schon etwas eingeschränkt. Dass Ricin ausser auf Säugetier- und Vogelblut auch auf Frosch- und Kreuzotterblut agglutinierend einwirkte, hatte schon Stillmark gezeigt; wie verhält es sich aber gegen Fischblut?

II. Wirkung des Ricins auf Fischblut.

Aus dem Herzen mehrerer grosser Barsche und Hechte entnahm ich das Blut und stellte von beiden defibrinierten Blutarten mit Hülfe von 0,8% physiologischer Kochsalzlösung eine Blut-Kochsalzmischung[1] her, und zwar vom Hechtblut eine 2%, vom Barschblut eine 4%.

[1] Überall, wo in meinen späteren Versuchen von Blut-Kochsalzmischung die Rede ist, ist immer eine Mischung des betreffenden defibrinierten Blutes mit dieser physiologischen 0,8% NaCl-Lösung gemeint.

Versuch No. 1: Je 10 ccm 2 % Hechtblut-Kochsalzmischung in Reagenzglas A und B. Glas A erhält einen Zusatz von 1 ccm 1 % Ricinlösung[1], Glas B bleibt als Kontrollglas ohne Zusatz. — Selbst nach 24 Stunden zeigt sich in Glas A keine Veränderung. Dass das Ricin auf geeignete Blutarten typisch wirkte, war vorher dargethan worden.

Versuch No. 2: Derselbe Versuch mit 4 % Barschblut-Kochsalzmischung. — Keine Veränderung durch Ricinzusatz nach 24 Stunden.

Ergebnis: Die Versuche No. 1 und 2 ergeben, dass Ricin auf defibriniertes Fischblut keine agglutinierende Wirkung hat. Also bildet das Fischblut eine recht auffallende Ausnahme in Bezug auf die Wirkung des Ricins auf Blutarten.

III. Verschiedenheit der Crotinwirkung auf die einzelnen Blutarten.

Ganz auffallend ist — nach den Untersuchungen Elfstrands — das Verhalten des Crotins; die roten Blutkörperchen einiger Blutarten agglutiniert es, diejenigen der anderen agglutiniert es nicht und — was das Interessante beim Crotin ist und die Ähnlichkeit mit manchen animalischen Agglutininen[2] frappant macht — diejenigen

[1] Die betr. Gifte habe ich, wenn anders nicht erwähnt, bei allen Versuchen in physiologischer Na Cl-Lösung gelöst, und zwar sind sämmtliche Dosenangaben meiner Versuche, welche sich auf Ricin, Crotin und Robin beziehen, auf aschehaltige Substanz berechnet. Da der Aschegehalt dieser Präparate, wie schon oben erwähnt, nicht unbeträchtlich war, so sind die zur Wirkung gelangten Dosen thatsächlich immer kleiner, als meine Angaben vermuten lassen.

[2] Vergl. darüber „Schlussbetrachtungen" von P. Ehrlich. Spec. Patholog. u. Therapie. Herausgegeben von H. Nothnagel, Bd. VIII, pag. 13 des Separat-Abdruckes.

noch anderer Blutarten löst es auf. Beim Katzenblut soll Crotin sogar gleichzeitig agglutinierend und haemolytisch wirken, während es die Kaninchenblutkörperchen vollkommen auflöst. Nach früheren Untersuchungen agglutiniert Crotin nicht die roten Blutkörperchen des Menschen, Hundes, Meerschweinchens, Huhnes, der Ratte, Gans und Taube. Auf Blut von Rind, Schaf, Schwein, Hecht und Frosch wirkt Crotin nach Elfstrand agglutinierend ein. Diese verschiedene Crotinwirkung bei den einzelnen Blutarten im Gegensatz zu der gleichmässigen Agglutination des Abrins war in hohem Grade auffallend, und ich habe daher die Angaben Elfstrands durch eine Reihe von Versuchen kontrolliert. Hierbei konnte ich die agglutinierende Wirkung des Crotins auf das Blut vom Schaf, Schwein — bei diesem wirkte es sogar auf unverdünntes Blut — Rind, Frosch und Hecht bestätigen. Auf Kalbsblut ist sein Agglutinationsvermögen jedoch nur ein ziemlich schwaches. Auch die Blutkörperchen des Barsches agglutinierte Crotin, wie folgender Versuch zeigt.

Versuch No. 3: 10 ccm 4 % Barschblut-Kochsalzmischung je in Glas A und B. Glas A mit Zusatz von 1 ccm 1 % Crotinlösung, B als Krontrollglas ohne Zusatz. Nach 7 Stunden in A, wenn auch nicht vollständige, so doch deutliche Agglutination; in B keine Veränderung.

Als unbeeinflusst durch Crotin fand ich, wie Elfstrand, das Blut vom Menschen, Hunde, Meerschwein und von der Taube; auch das Blut des Igels erwies sich als zu dieser Gruppe gehörig.

Versuch No. 4:

a) Je 10 ccm 2 % Igelblut-Kochsalzmischung in Glas A und B. A mit Zusatz von 1 ccm 1 % Crotinlösung, B von 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung. — Selbst

nach 12 Stunden in A keine Veränderung. Bei der Filtration geht der Inhalt unverändert durch das Filter.

b) Bei 10 % Igelblut-Kochsalzmischung, in einem sonst gleichen Versuche, nach mehreren Stunden ebenfalls keine Agglutination durch Crotin.

c) Zu 5 ccm unverdünnten Igelblutes werden 2 ccm 1 % Crotinlösung gethan. — Selbst nach minutenlangem Hinundherschwenken des Glases tritt keine Klümpchenbildung ein. Das Blut passiert das Filter unverändert.

Haemolytische Wirkung des Crotins will Elfstrand bei Kaninchenblut und bei Katzenblut teilweise (teilweise soll es agglutiniert werden) gesehen haben. Für das Kaninchenblut konnte ich Haemolyse bestätigen; ebenso fand ich in folgendem Versuche Haemolyse beim Krähenblut.

Versuch No. 5: 3 % Krähenblut-Kochsalzmischung zu je 10 ccm in Glas A, B und C. Zu A wird 1 ccm 1 % Crotinlösung, zu B 1 ccm Kochsalzcrotonextrakt, zu C 1 ccm physiologischer Na Cl-Lösung gesetzt. — Nach 15 Minuten in A und B Auflösung aller roten Blutkörperchen, in C keine Veränderung.

Beim Blut der Katze konnte ich jedoch trotz zahlreicher Versuche kein einziges Mal haemolytische Wirkung des Crotins erzielen; niemals wurden die Blutkörperchen nach der einen oder anderen Richtung hin durch Crotin beeinflusst, sondern blieben stets unverändert. Hier nur einige der Versuche.

Versuch No. 6:

a) Je 10 ccm 2 % Katzenblut-Kochsalzmischung in Glas A und B. A mit Zusatz von 1 ccm 1 % Crotinlösung, B von 1 ccm physiologischer Na Cl-Lösung. — Selbst nach 20 Stunden keine Veränderung in Glas A und B.

b) Der gleiche Versuch mit 3 % Katzenblut-Kochsalzmischung. — Selbst nach 16 Stunden ist der Inhalt von Glas A unverändert.

Versuch No. 7: Aus der Carotis einer Katze werden 2 ccm undefibriniertes Blut in 90 ccm einer Lösung, welche 2 % Fluornatrium und 0,75 % NaCl enthielt, aufgefangen und je 10 ccm dieser Mischung in Glas A und B verteilt, worauf zu A 1 ccm 1 % Crotin- und zu B 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung gesetzt wird. — Nach 20 Stunden Inhalt von A noch unverändert.

Aus diesen Versuchen ergiebt sich, dass das Crotin — entgegen der Meinung Elfstrands — überhaupt keine Wirkung auf die Katzenblutkörperchen ausübt. Jedoch die Verschiedenheit der Crotinwirkung, d. h. das negative und haemolytische Verhalten des Crotins einzelnen Blutarten gegenüber ist sicher bewiesen.

IV. Die Wirkung von Ricin und Abrin auf einige bis dahin noch nicht untersuchte Blutarten.

Ich habe auch die Wirkung des Abrins und Ricins auf einige bis dahin noch nicht geprüfte Blutarten untersucht.

Versuch No. 8: Igelblut.

a) Je 10 ccm 2 % Blut-Kochsalzmischung in Glas A, B, C und D. A mit Zusatz von 1 ccm 1 % Ricinlösung, B von 1 ccm Ricinus-, C von 1 ccm Abrusextrakt, D von 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung. — Nach wenigen Minuten tritt in Glas C, nach mehreren in A und B Agglutination ein; in D keine Veränderung. Bei der Filtration liefert der Inhalt von Glas A, B und C einen siegellackfarbenen, feinklumpigen Niederschlag und ein farbloses Filtrat,

während derjenige von D unverändert das Filter passiert.

b) Zu 5 ccm unverdünnten Igelblutes werden 2 ccm Abrusextrakt gesetzt. Erst nach 10 Minuten langem Schwenken des Glases tritt Agglutination ein. Bei der Filtration bleiben die gesamten Blutkörperchen auf dem Filter.

Ergebnis: Ricin und Abrin — letzteres stärker — agglutinieren die roten Blutkörperchen des Igels.

Versuch No. 9: Krähenblut.

a) Je 10 ccm 3 % Blut-Kochsalzmischung in Glas A, B, C und D. Zu A wird 1 ccm 1 % Ricin-, zu B 1 ccm 1 % Abrin-Lösung, zu C 1 ccm Abrusextrakt, schliesslich zu D 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung gesetzt. — Nach wenigen Minuten tritt in C, nach 15 Minuten in A und B Agglutination ein; Inhalt von D unverändert.

b) Zu 5 ccm unverdünnten Krähenblutes wird 1 ccm Abrusextrakt gesetzt. — Nach 1 Stunde keine Klümpchenbildung erkennbar. — Nach 24 Stunden Agglutination, welche die Filtration bestätigt.

Der Versuch ergiebt, dass die Krähenblutkörperchen durch Abrin sehr stark und schnell — als besonders wirksam erweist sich das Kochsalzextrakt — durch Ricin etwas langsamer agglutiniert werden.

Die Hellin'schen Versuche setzte ich fort, indem ich die Wirkung des Abrins auf folgende Blutarten untersuchte:

Versuch No. 10:

a) Schweineblut.

Je 10 ccm 3 % Blut-Kochsalzmischung in Glas A und B. A mit Zusatz von 1 ccm 1 % Abrinlösung,

B als Kontrollglas. — Nach 30 Minuten haben sich in A alle Blutkörperchen zusammengeballt und liegen am Boden des Glases.

b) 3 % Blutkörperchen-Kochsalzmischung zu je 10 ccm in Glas A, B und C. A wird zugesetzt 1 ccm 1 % Abrinlösung, B 1 ccm Abrusextrakt, C ohne Zusatz. — Nach 1 Minute in B, nach wenigen in A Klümpchenbildung; C ohne Veränderung.

c) Hammelblut.
3 % Blut-Kochsalzmischung zu je 10 ccm in Glas A und B. Zusatz von A 1 ccm Abrusextrakt; B zur Kontrolle. — Nach wenigen Minuten in A vollkommene Agglutination, welche auch die Filtration bestätigt, in B keine Veränderung.

d) der gleiche Versuch mit 10 % Blut-Kochsalzmischung. — Der Befund ist der gleiche, doch ist hier die Abrinwirkung keine so intensive.

e) der gleiche Versuch mit 50 % Blut-Kochsalzmischung. — Selbst nach mehreren Stunden keine Agglutination zu konstatieren. Der Giftzusatz war offenbar im Verhältnis zur Zahl der roten Blutkörperchen zu gering.

f) Menschenblut (aus einer Placenta gewonnen).
3 % Blut-Kochsalzmischung zu je 10 ccm in Glas A und B mit den gleichen Zusätzen wie in c. — Nach 30 Minuten in A beginnende Agglutination, die nach 7 Stunden vollständig ist.

g) der gleiche Versuch mit unverdünntem Blut. — Nach 24 Stunden in A teilweise Agglutination.

h) Meerschweinchenblut.
3 % Blut-Kochsalzmischung. Es wird wie oben verfahren. — Nach 10 Minuten in A Klümpchenbildung, die nach 1 Stunde vollständig ist.

i) Taubenblut.
3 % Blut-Kochsalzmischung; sonst wie oben. Nach 30 Minuten in A beginnende Agglutination.

k) Froschblut.
Je 10 ccm 3 % Blut-Kochsalzmischung in Glas A, B und C, worauf A 1 ccm 1 % Abrinlösung, B 1 ccm Abrusextrakt, C 1 ccm physiologische NaCl-Lösung zugesetzt wird. — Nach 15 Minuten in B, nach mehreren Stunden in A vollkommene Agglutination. In C keine Änderung.

l) Je 10 ccm 1 % Froschblutkörperchen-Kochsalzmischung in Glas A, B und C mit gleichen Zusätzen wie in k. — Nach 5 Minuten in B, etwas später in A beginnende Agglutination.

m) Hechtblut.
2 % Blut-Kochsalzmischung zu je 10 ccm in Glas A und B. A mit Zusatz von 1 ccm Abrusextrakt, B als Kontrolle. — Nach 30 Minuten in A beginnende Agglutination, die nach 7 Stunden vollständig ist; B ohne Veränderung.

n) Barschblut.
4 % Blut-Kochsalzmischung. — Es wird in gleicher Weise verfahren und das gleiche Resultat erzielt wie in m.

Ergebnis: Abrin agglutiniert die roten Blutkörperchen von Mensch, Schwein, Hammel, Meerschweinchen, Taube, Frosch, Hecht und Barsch, und zwar sind die Blutkörperchen-Kochsalzmischungen der einzelnen Blutarten empfindlicher gegen die Abrinwirkung als die Blut-Kochsalzmischungen. Offenbar wirken bei Letzteren schon die geringen Serummengen auf die Agglutination hindernd, d. h. als normales Antiagglutinin.

V. Einiges über Robin (oder Robinin).

1. Robin als Agglutinin.

Mit Robin waren bis jetzt noch keine methodischen Blutversuche angestellt worden. Auf eine Reihe von Blutarten habe ich seine Wirkung geprüft. Ich bemerke

im Voraus, dass das Präparat keinerlei alkohollösliche Gifte, insonderheit keine Alkaloide oder Glykoside enthielt.

Versuch No. 11: Schweineblut.

a) Je 10 ccm 3 % Blut-Kochsalzmischung in Glas A, B, C und D. Zusatz von A 1 ccm, von B 2 ccm, von C 3 ccm 5 %[1] Robinlösung; D mit Zusatz von 1 ccm physiologischer Na Cl-Lösung. — Nach 1 Stunde in C, nach mehreren in A und B beginnende Agglutination. Nach 14 Stunden liegen in allen 3 Gläsern die zusammengeballten Blutkörperchen am Boden; die Filtration liefert ein farbloses Filtrat. Der Inhalt von D geht unverändert durch das Filter.

b) Je 10 ccm 3 % Blutkörperchen-Kochsalzmischung in Glas A und B. A wird 1 ccm 5 % Robinlösung zugesetzt, B als Kontrolle. — Nach mehreren Stunden in A Klümpchenbildung, in B nicht.

Versuch No. 12: Hammelblut.

3 % Blut-Kochsalzmischung zu je 10 ccm in Glas A, B und C. Zusatz von A 1 ccm 5 % Robinlösung, von B 1 ccm 10 % Chlorammonium-Robinlösung[2], C als Kontrolle. — Nach mehreren Stunden nur teilweise, nach 24 Stunden vollständige Agglutination in A und B; Inhalt von C unverändert.

Versuch No. 13: Kaninchenblut.

Je 10 ccm 3 % Blut-Kochsalzmischung in Glas A mit Zusatz von 2 ccm 10 % Robinlösung, in Glas B

---

[1] Ich habe in diesem Falle nicht, wie bei Abrin, Ricin und Crotin eine 1 %ige, sondern eine 5 %ige Robinlösung verwandt, weil ein grosser Teil des Merck'schen Präparats wegen seines Alters — es stand schon 12 Jahre bei Prof. Kobert — unlöslich geworden war.

[2] Wegen seiner unvollkommenen Löslichkeit in physiologischer Na Cl-Lösung wurde das Robin in diesem Falle, um eine grössere Wirksamkeit zu erzielen, in 1 % Chlorammoniumlösung im Verhältnis von 1:10 gelöst.

von 1 ccm physiologischer Na Cl-Lösung. — Nach mehreren Stunden in A Agglutination; nach 12 Stunden liegen alle Blutkörperchen in kleinen Klümpchen am Boden des Glases. B ohne Veränderung.

Versuch No. 14: Meerschweinchenblut.

3 % Blut-Kochsalzmischung; es wird genau so verfahren wie in Vers. 12. — Nach 5 Stunden in B vollkommene, in A teilweise Agglutination; C ohne Veränderung.

Versuch No. 15: Kalbsblut.

3 % Blut-Kochsalzmischung; sonst wie oben. — Nach 7 Stunden in keinem Glase makroskopisch eine Veränderung. Nach 24 Stunden in A und B minimale, aber durch Filtration bestätigte Agglutination; C ohne Veränderung.

Versuch No. 16: Krähenblut.

3 % Blut-Kochsalzmischung zu je 10 ccm in Glas A und B. A mit Zusatz von 1 ccm 5 % Robinlösung; B als Kontrolle. — Nach 15 Minuten tritt Klümpchenbildung in A ein; B bleibt unverändert.

Versuch No. 17: Froschblut.

Je 10 ccm 3 % Blut-Kochsalzmischung in Glas A, B, C und D. Zu A werden 1 ccm, zu B 2 ccm, zu C 5 ccm 5 % Robinlösung, zu D 1 ccm physiologischer Na Cl-Lösung gesetzt. — Nach 4 Stunden in B nur spurweise, in C fast vollständige Zusammenballung der roten Blutkörperchen; A und D ohne Veränderung. Die Filtration bestätigt diesen Befund.

Ergebnis der Versuche No. 11—17: Die roten Blutkörperchen des Schweines, Hammels, Kaninchens, Meerschweinchens, Kalbes, Frosches und der Krähe werden durch das Robin agglutiniert. Am empfindlichsten gegen die Robinwirkung

war das Krähenblut, am wenigsten empfindlich dasjenige des Kalbes. Durch das Chlorammonium war mehr wirksame Substanz in Lösung gegangen als durch die physiologische NaCl-Lösung. Im Übrigen tritt die Robinwirkung später ein und ist nicht so intensiv, wie die der anderen Agglutinine.

Versuch No. 18: Hundeblut.

Von einer 3 % Blut-Kochsalzmischung werden je 10 ccm in Glas A, B, C und D gefüllt. Zusatz von A 1 ccm, von B 2 ccm, von C 3 ccm 1 % Robinlösung; D als Kontrollglas. — Selbst nach 6 Stunden in keinem der Gläser Klümpchenbildung, wohl aber eine Venosität des Hb's in A—C.

Versuch No. 19: Menschenblut (aus einer Placenta).

Je 10 ccm 3 % Blut-Kochsalzmischung in Glas A mit Zusatz von 1 ccm 5 % Robinlösung, in B von 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung. — Selbst nach 24 Stunden in A keine Agglutination.

Versuch No. 20: Katzenblut.

a) 2 % Blut-Kochsalzmischung, das Übrige wie in Versuch 19. — Nach 20 Stunden absolut keine Agglutination.

b) 2 % Blutkörperchen-Kochsalzmischung, sonst wie in a. — Selbst nach 10 Stunden keine Klümpchenbildung.

c) Von einer 2 % undefibrinierten, in 2 % Fluornatrium-Kochsalzlösung aufgefangenen Blutmischung werden je 10 ccm in Glas A und B verteilt und mit obigen Zusätzen versehen. — Nach 20 Stunden hat Robin noch nicht agglutiniert.

Wie Versuche No. 18—20 zeigen, werden die Blutkörperchen des Menschen, Hundes und der Katze durch Robin nicht agglutiniert. Eine haemolytische Wirkung, wie wir sie bei Crotin

gesehen haben, hat sich jedoch beim Robin bei keiner dieser untersuchten Blutarten nachweisen lassen.

2. Die toxischen Wirkungen des Robins.

Da das Robin in vitro Zusammenklumpung der roten Blutkörperchen hervorruft, so liegt der Gedanke sehr nahe, dass es intra corpus ebenfalls diese agglutinierende Wirkung unter den roten Blutkörperchen entfalten und zu Thrombenbildung mit sekundären Embolieen und deren Folgeerscheinungen führen möchte. Oder hat Robin ausser dem Agglutinationsvermögen sonst noch toxische Wirkungen, etwa auf das Centralnervensystem? Da es nun toxikologisch bis jetzt so gut wie garnicht studiert ist, so habe ich zur Klärung dieser Fragen an Tieren mehrere subcutane und einen intravenösen Vergiftungsversuch vorgenommen; ich teile dieselben hier mit.

Versuch No. 21: Einem grossen, gesunden Kaninchen werden 4 ccm 1 % Robinlösung unter die Haut gespritzt. — Der darauf gelassene Urin sieht intensiv rotbraun aus. Mit Spiegler'schem Reagenz lässt sich im Harne eine geringe Eiweissausfällung hervorbringen. Der folgende Urin hat wieder normale Beschaffenheit. Das Tier hat gut gefressen und keine Störung seines Befindens gezeigt. Die Giftdosis war offenbar verhältnismässig klein.

Versuch No. 22: Ein grosses Kaninchen, das einen absolut gesunden Eindruck macht, erhält subcutan 10 ccm 5 % Robinlösung. — Der hierauf gelassene erste Harn ist rötlich und zeigt die beiden Oxyhaemoglobinstreifen im Spektrum. Störungen im Allgemeinbefinden des Tieres waren nicht zu bemerken. — Auch in diesem Falle war die Giftdosis zu klein.

Versuch No. 23: Zu 25 ccm Chlorammonium-Robinlösung[1] werden bei neutraler Reaktion 5 ccm 10 % Ferrocyankaliumlösung (ohne Essigsäure) gesetzt, worauf sich ein reichlicher weisser Niederschlag bildet, der abfiltriert wird. Dieser Niederschlag wird vom Filter entfernt und in circa 4 ccm destilliertem Wasser suspendiert. Er wird zwecks Feststellung seiner Wirksamkeit auf Hammelblut-Kochsalzmischung geprüft, und es ergiebt sich hierbei selbst nach 24 Stunden nur eine ganz minimale, eben erkennbare Agglutination. Offenbar bestand dieser Niederschlag überhaupt nicht aus Eiweissverbindung der Ferrocyanwasserstoffsäure, sondern aus Verbindungen dieser Säure mit unorganischen Stoffen (Kalk).

Das Filtrat des Ferrocyankalium-Niederschlages wird mit 1 ccm verdünnter Essigsäure ausgefällt, wobei alle diejenigen Substanzen fallen, welche mit Ferrocyankalium + Essigsäure fällbar sind, d. h. alle Eiweissstoffe, und unter diesen auch das Robin-Toxalbumin, wofern es nicht schon vorher bei der Ferrocyankalium-Fällung ohne Essigsäure mitgefallen ist. In der That war diese Gefahr insofern gross, als der vorige Niederschlag sehr reichlich war und die Toxalbumine ja durch alle voluminösen Niederschläge mit niedergerissen werden. Darauf wird dieser schwach saure Niederschlag, welcher in 7 ccm destilliertem Wasser suspendiert ist, mit kohlensaurem Natron vorsichtig schwach alkalisch gemacht — wobei er sich klärt, indem die Eiweiss-

---

[1] 10%ige Auflösung von Robin in 11%iger Chlorammoniumlösung; diese Lösung, welche alle Eiweissreaktionen gab, wurde gewählt, weil die Auflösung in physiologischer Na Cl-Lösung so ungenügend war, dass von den Eiweissproben nur Ferrocyankalium + Essigsäure schwach positiv war, Spiegler, Esbach, Millon dagegen negativ.

stoffe in Lösung gehen — und ohne Filtrieren einem 1100 g schweren, jungen, gesunden Kaninchen unter die Haut gespritzt. —

Nach 5 Stunden wird das Kaninchen krank und frisst nicht. Im Harn 20 Stunden nach der Vergiftung durch Spiegler'sches Reagenz Eiweiss nachweisbar. In den nächsten Tagen steigert sich die Eiweissausscheidung, bis nach genau 6 Tagen der Tod eintritt.

Bei der bald darauf vorgenommenen Sektion fand sich in der Harnblase reichlich Harn, der hellgelb, etwas trübe und von normaler, schwach alkalischer Reaktion war. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Urinsedimentes sieht man zahllose, zum Teil sehr lange Cylinder, die sich in Essigsäure nicht lösen, und zwar sowohl epitheliale, als auch granulierte und hyaline neben Übergangsformen. Rote Blutkörperchen sind nicht zu sehen, weisse nur spärlich. Im Filtrat dieses Urins reichlich Eiweiss, durch alle Reaktionen nachweisbar.

Sonstige makroskopische Veränderungen nicht wahrnehmbar. An der Injectionsstelle keine Eiterung, wohl aber in geringer Ausdehnung sulziges Ödem.

Auf Nierenschnitten, welche parallel den Sammelröhren geführt worden sind, sieht man bis zur Papille reichende homogene Cylinder, welche sich über weite Strecken hin verfolgen lassen. An manchen Stellen ist kaum ein einziger Kanal von der Cylinderbildung frei. Auf Querschnitten füllen die Cylinder die Lumina meist nicht ganz aus, weil sie durch den Härtungsprozess an Volumen eingebüsst haben. Mit Farbstoff tingieren sich die Cylinder nur schwach. Die Glomeruli und die dieselben umgebenden Kapselräume sind von pathologischen Veränderungen frei.

Leber ohne Veränderungen; die Leberzellen enthalten meistens gut erhaltene Kerne.

Versuch No. 24: Es werden 10 g käufliches Robin mit 100 ccm 11 % Chlorammoniumlösung 24 Stunden digeriert, hierauf filtriert und das Filtrat mit 5 ccm 10 % Ferrocyankaliumlösung (ohne Essigsäure) ausgefällt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und in 15 ccm physiologischer NaCl-Lösung suspendiert.

Zum Ferrocyankalium-Filtrat werden 5 ccm verdünnte Essigsäure gesetzt, wodurch das toxische Prinzip ausgefällt werden muss; dieser Niederschlag wird in 15 ccm physiologischer NaCl-Lösung aufgenommen. Jetzt wird mit dem sauren und dem nicht sauren Ferrocyankalium-Niederschlag, nach vorheriger Neutralisation mit Natriumcarbonat, je 1 Kaninchen vergiftet.

Ein junges, gesundes, etwa 1 kg schweres Kaninchen No. I erhält subcutan die 15 ccm der neutralisierten Essigsäure-Ferrocyankalium-Niederschlags-Suspension. Ein gleichfalls junges, etwas grösseres, gesundes Kaninchen No. II erhält um dieselbe Zeit die 15 ccm der anderen Niederschlags-Suspension, d. h. desjenigen Niederschlages, welcher ohne Essigsäure entstanden war.

Nach 24 Stunden ist das Wohlbefinden beider Tiere gestört, und es lässt sich im Urin von Kaninchen II wenig, aber doch deutlich, im Urin von Kaninchen I reichlich Eiweiss nachweisen.

Nach weiteren 24 Stunden ist die Eiweissausscheidung bei Kaninchen II um etwas, bei Kaninchen I um Bedeutendes vermehrt, durch Spiegler'sches, Millon'sches und Esbach'sches Reagenz nachgewiesen.

3 Tage nach der Vergiftung ist der Urin von Kaninchen II eiweissfrei; das Befinden des Tieres

ist gut. Dagegen ist Kaninchen I sehr krank; der Urin enthält noch mehr Eiweiss.

Nach 4 vollen Tagen seit der Applikation ist Kaninchen II vollständig munter, Kaninchen I äusserst krank; es hat seit 22 Stunden keinen Urin entleert. Am Abend des 4. Tages ist Kaninchen I noch im Stande, durch das Zimmer zu laufen, doch scheint der Bauch angeschwollen. Früh am 5. Tage ist es tot, ohne Harn gelassen zu haben.

Sektion: In der Bauchhöhle bedeutendes farbloses Transsudat; in der Brusthöhle auch, aber weniger. Beide Nieren an Volumen vergrössert, quellen aus der angeschnittenen Kapsel hervor. Makroskopisch ist nichts Besonderes an ihnen zu sehen, ausser dass der Querschnitt verbreitert ist. Alle übrigen Organe zeigen makroskopisch nichts Besonderes. In der Harnblase etwas Harn, welcher sozusagen fast nur aus Cylindern besteht. Chemisch lässt sich neben reichlichem Eiweiss deutlich Ferrocyankalium (Berlinerblau-Bildung bei Eisenchlorid-Zusatz) nachweisen.

Mikroskopischer Befund: Niere. Schnitt durch die Papille. In fast jedem Röhrchenlumen liegt eine Masse, die zuweilen aus mehreren Teilen besteht. Diese Massen sind Cylinder. Sie sind teils gekörnt, teils homogen; einige enthalten auch Epithelien. Der Sitz der Exsudate ist bis in die Tubuli contorti zu verfolgen. Die meisten Kapseln sind frei geblieben. In manchen Cylindern sind Vakuolen zu bemerken. Deutliche Hyperaemie der Niere.

In sehr vielen Leberzellen sieht man 2 Kerne, aber keine pathologische Veränderungen. An den übrigen Organen ebenfalls nichts Pathologisches.

Von den beiden zu diesem Versuch verwendeten Tieren erkrankten zwar beide, es starb aber nur

dasjenige, welches den durch Ferrocyankalium + Essigsäure erzielten Niederschlag erhalten hatte, denn dieser enthielt fast die Gesamtmenge des Gifteiweisses. Das andere Tier erhielt den durch Ferrocyankalium ohne Essigsäure erzeugten Niederschlag. Dieser enthielt nur ein klein wenig des Giftes, welches rein mechanisch mitgerissen war.

Versuch No. 25: 2 g käufliches Robin werden in 20 ccm 0,4 % HCl-Lösung, denen 0,2 g Pepsinum absolut. (Witte) zugesetzt ist, in der Wärmewanne 24 Stunden verdaut. Darauf wird filtriert und 12 ccm des verdauten, mit Natriumcarbonat schwach alkalisch gemachten, Robinfiltrates einem mittelgrossen Meerschweinchen unter die Haut gespritzt.

Nach 24 Stunden im Urin kein Eiweiss. Allgemeinbefinden gut. — Nach weiteren 24 Stunden keine Störung des Wohlbefindens und keine Eiweissausscheidung. — In den folgenden 2 Tagen keine Änderung.

Offenbar war in diesem Falle die Giftmenge eine zu geringe; nach später aufgeführten Versuchen ist es unwahrscheinlich, dass die Verdauung an dem Ausfall der Vergiftungserscheinungen Schuld war. Ich beschloss deshalb eine nochmalige Vergiftung desselben Tieres mit einer grösseren Robindosis.

Zu diesem Zwecke löste ich 10 gr Robin in 100 ccm 11 % NaCl-Lösung 24 Stunden lang auf, worauf filtriert wurde. Beim Zusatz von Ferrocyankalium + Essigsäure zum Filtrat entstand selbst nach längerem Stehen nur eine so geringe Ausfällung (a), dass unmöglich das toxische Prinzip vollkommen in Lösung gegangen sein konnte. Infolgedessen wurde der Filterrückstand nochmals mit 50 ccm 11 % Chlorammoniumlösung extrahiert und darauf filtriert. Das Filtrat wurde ebenfalls mit Ferrocyankalium + Essigsäure, ad libitum zugesetzt,

ausgefällt (b). Darauf wurde Kochsalz- (a) und die Chlorammonium-Ausfällung (b) abfiltriert, den beiden Filterrückständen Natriumcarbonat zugesetzt und dadurch eine Lösung des gefällten Gifteiweisses hervorgerufen, welches nun abfiltriert werden konnte und ins Filtrat ging. Diese beiden hellgelben Filtrate, zusammen 20 ccm, werden jetzt demselben Meerschweinchen subcutan appliciert.

Am Tage darauf im Urin durch alle Proben Eiweiss nachweisbar. Das Tier frisst jedoch noch und ist anscheinend nicht sehr krank.

50 Stunden nach der Vergiftung stirbt das Tier, ohne grössere Störungen in seinem Befinden gezeigt zu haben.

Die Sektion und das Mikroskop lieferten ein ähnliches Resultat wie in Versuch 24; doch waren die pathologischen Veränderungen bei weitem nicht so hochgradige wie dort.

Versuch No. 26: 4,2 g käufliches Robin werden mit 42 ccm 11 % Chlorammoniumlösung 24 Stunden digeriert, darauf filtriert und das Filtrat mit Ferrocyankalium + Essigsäure ausgefällt, worauf nochmals filtriert wird. Der Filterrückstand wird, mit Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht, in 15 ccm physiologischer NaCl-Lösung aufgenommen und einem mittelgrossen Terrier-Hund in die Vena jugularis langsam gespritzt, ohne Narcose. Da während der Injektion die Atmung aussetzte und der Herzschlag schwach und arrhythmisch wurde, wird künstliche Atmung gemacht, worauf bald die Injektion fortgesetzt werden kann. Der Hund anfangs unruhig, erholt sich jedoch bald wieder und zeigt dann normales Befinden.

Am Tage darauf im Urin durch alle Reaktionen deutlich Eiweiss nachweisbar. Sonst ist der Hund munter.

Am 2. Tage nach der Injektion ist im Harn ebenfalls noch deutlich Eiweiss nachweisbar.

Nach weiteren 24 Stunden nur noch Spuren von Eiweiss im Urin.

Am 4. Tage nach der Vergiftung kein Eiweiss mehr nachweisbar. Der Hund erholt sich vollkommen und bleibt dauernd gesund.

Offenbar war die Giftmenge zu gering, um das Tier zu töten.

Versuch No. 27: In 20 ccm physiologischer NaCl-Lösung werden 2 g reines dialysiertes Robin (Merck) 16 Stunden hindurch aufgelöst. Darauf werden 18 ccm hiervon einem mittelgrossen, gesunden Kaninchen unter die Haut gespritzt.

Am folgenden Tage ist das Tier krank. Nach weiteren 24 Stunden frisst das Kaninchen nicht mehr und kauert im Käfig; im spärlich gelassenen Urin deutlich Eiweiss nachweisbar.

An den beiden folgenden Tagen Status idem. Am 5. Tage nach der Vergiftung stirbt das Kaninchen.

Sektion: In Brust- und Bauchhöhle kein Transsudat. Die Leber ist äusserst blutreich, die Gallenblase prall gefüllt. Am leeren Magen keine Veränderungen der Schleimhaut, nur an einer Stelle ein hanfkorngrosses, fest aufsitzendes Blutgerinnsel. Die Marksubstanz der Nieren recht blutreich. Harnblase mässig gefüllt. Im Sediment des Urins spärliche Cylinder und Leukocyten. Beim filtrierten, aus der Blase entnommenen Urin Ferrocyankalium + Essigsäure, sowie Reagenz von Spiegler und Esbach stark positiv. An den anderen Organen nichts Pathologisches. Die Injektionsstelle ist sulzig infiltriert.

Mikroskopischer Befund: Die Leber zeigt reichlich Hyperaemie; in den Zellen meist 2 wohl erhaltene Kerne deutlich wahrnehmbar; Protoplasma der Zellen intakt.

In der Schleimhaut des Magens eine keilförmige Blutung, deren Spitze in der Submucosa liegt.

An den Nieren die Veränderungen nicht deutlich ausgesprochen.

Ergebnis der Versuche No. 21—27: Robin macht in corpore keine oder wenigstens keine annähernd so ausgedehnte Zusammenklumpung der roten Blutkörperchen wie nach den vorhergehenden Versuchen in vitro zu erwarten gewesen wäre. Da jedoch die obigen Ergebnisse durchgehends nur mit 3 % Blut-Kochsalzmischungen erzielt wurden, so war bei den Vergiftungen die Giftdosis im Verhältnis zu der Unzahl der roten Blutkörperchen ohne Frage eine viel zu geringe, als dass die Agglutinationserscheinungen hätten deutlich werden können. Dazu kommt noch, dass die lebenden Zellwände des Gefässsystems und das Plasma des Blutes, wie schon andere Autoren[1] in vitro gezeigt haben, zweifelsohne eine antitoxische Wirkung entfalten. Nichtsdestoweniger ist das beginnende Magengeschwür in Vers. 27 offenbar auf eine Embolie zurückzuführen. Bei allen Vergiftungen wurde jedoch stets eine Nierenalteration, ja oft geradezu eine Nephritis erzeugt, die sich zum Mindesten durch mehr oder weniger grossen Eiweiss- bezw. Haemoglobingehalt des Urins und starke Cylindrurie (Vers. 23 u. 24) dokumentierte. In Versuch 24 war die Bildung von Cylindern in den Harnkanälchen eine derartig ausgedehnte, dass sie während der letzten 32 Stunden zur vollkommenen Anurie und zu einem bedeutenden Transsudate in Brust- und Bauchhöhle führte. Ob noch

[1] Elfstrand, Über blutkörperchenagglutinierende Eiweisse, pag. 54.

eine toxische Wirkung des Robins auf das Zentralnervensystem oder das Herz besteht, wie man nach dem ziemlich negativen Sektionsbefund in Versuch 25 und 27 erwarten könnte, das muss in dubio gelassen werden. Lokale Reizerscheinungen ruft Robin nicht hervor.

Ich würde sehr gern noch eingehendere Versuche darüber angestellt haben, ob die giftige Eiweisssubstanz der Robinienrinde ein Albumin, eine Albumose oder ein Globulin, oder ein Gemisch zweier Substanzen ist. Zu derartigen Versuchen hätte ich jedoch viel grössere Mengen von Material gebraucht, als sie mir zur Verfügung standen. Ich musste mich daher damit begnügen, festgestellt zu haben, dass es sich thatsächlich um um eine giftige Eiweisssubstanz handelt.

VI. Werden von den Agglutininen ausser den roten Blutkörperchen auch andere celluläre Elemente in spezifischer Weise agglutiniert?

Kehren wir zu den Agglutininen zurück und fragen wir uns, ob deren Wirkung eine für das Blut spezifische ist. Sind es allein die roten Blutkörperchen, die durch unsere 4 Gifte zur Verklebung gebracht werden, oder besteht dieses Agglutinationsvermögen auch für andere celluläre Elemente? Diese Frage habe ich, weil bisher fast garnicht studiert, ziemlich eingehend zu beantworten versucht. Es folgen diesbezügliche Experimente.

Versuch No. 28: Eiterkörperchen. 10 ccm alten, menschlichen Eiters werden mit 40 ccm physiologischer Na Cl-Lösung gemischt und von dieser Mischung je 10 ccm in Glas A, B, C und D gefüllt, worauf A einen Zusatz von 1 ccm 1 % Ricin-, B von 1 ccm 1 % Crotin-, C von 1 ccm 1 % Abrinlösung, D von 1 ccm physiologischer Na Cl-Lösung erhält. — Nach

wenigen Minuten ballen sich die Eiterkörperchen in Glas A und C, nach mehreren in B zusammen, während in D keine Agglutination eintritt. Bei der Filtration liefert der Inhalt von A, B und C ein farbloses Filtrat und die Eiterkörperchen bleiben in feinsten Klümpchen auf dem Filter zurück. Der Inhalt von D geht fast unverändert hindurch.

Ergebnis: Es werden also Eiterzellen in derselben Weise wie die roten Blutkörperchen durch die Agglutinine zur Verklebung gebracht, obwohl Elfstrand[1] dies bestreitet.

Versuch No. 29: Ungekochte Milch.

a) 3 Portionen amphoter reagierender, ungekochter Kuhmilch von je 10 ccm. Portion A erhält einen Zusatz von 1 ccm 1 % Ricin-, B einen solchen von 1 ccm 1 % Crotinlösung, C bleibt ohne Zusatz. Die 3 Gläser werden in die Wärmewanne (35—37 ° C.) gestellt. —

Nach 20 Minuten sieht man Portion B ihr homogenes Aussehen verlieren und staubkornfeine Klümpchen sich bilden. Nach 16 Stunden ist eine scharfe Trennung in 3 Teile eingetreten: Oben schwimmt alles Fett, in der Mitte befindet sich ein fest zusammenhängendes Caseingerinnsel und der übrige Raum ist angefüllt mit farblosem Milchserum. In Glas A ist die Trennung nicht ganz so scharf. In der Kontrollportion hat sich nur etwas Fett oben abgeschieden.

b) Zu 20 ccm frischer, ungekochter Kuhmilch wird in Glas A 1 ccm Abrusextrakt und zu gleicher Portion in B 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung gethan. Hierauf werden beide Gläser in die Wärmewanne gestellt. — Nach 3 Stunden am Rande des Glases A feinste Klümpchen, in B keine Veränderung. —

[1] Elfstrand, pag. 57.

Nach 24 Stunden hat sich in A oben das Fett, darunter das Casein coaguliert abgeschieden, unter welchem das farblose Serum steht. In Glas B steht oben alles Fett, unter diesem die geronnene, opake Milch.

Versuch No. 30: Gekochte Milch.

Es werden 50 ccm frischer Kuhmilch gekocht und nach Zusatz von 1 Tropfen Chloroform (um Bakterienwirkung auszuschliessen) zu je 10 ccm in Glas A, B, C, D und E verteilt. Zu A wird 1 ccm 1 % Ricin-, zu B 1 ccm 1 % Crotin-Lösung, zu C 1 ccm Abrus- und zu D 1 ccm Ricinus-Extrakt, E als Kontrolle. Die Gläser kommen in die Wärmewanne. — Nach 24 Stunden hat sich in A—D das Fett, coagulierte Casein und Serum scharf getrennt, während Glas E unveränderte, flüssige Milch enthält.

Ergebnis: Es tritt bei gekochter und ungekochter Milch durch Zusatz von Ricin, Crotin[1] und Abrin ohne Änderung der Reaktion eine Gerinnung ein, welche derjenigen durch Labenzym ähnlich ist.

Versuch No. 31: Gehirnzellen (Meerschweinchen).

a) Das Gehirn eines eben durch Entbluten getöteten Meerschweinchens wird in der Reibschale fein zerrieben, mit öfter gewechseltem destillierten Wasser von Blut befreit und die Masse (15 ccm) mit 45 ccm physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, worauf 6 Portionen von je 10 ccm geschaffen werden. Zusatz von A 1 ccm 1 % Ricin-, von B 1 ccm 1 % Crotin-Lösung, von C 1 ccm Abrusextrakt, von D 1 ccm H_2O_2 = Abrusextrakt[2], von E 1 ccm 5 % Robinlösung, F als Kontrolle.

---

[1] Elfstrand, pag. 58.

[2] Abrusextrakt zu gleichen Teilen verdünnt mit der im Handel üblichen 3 % H_2O_2-Lösung.

Alsbald sieht man in Glas A—E die feinsten Flöckchen sich zusammenballen und zu Boden sinken, fast ganz klare Flüssigkeit über sich lassend, während sie in Kontrollglas F in Suspension bleiben; hier haben sich nur die gröberen Partikelchen gesenkt, so dass keine scharfe Grenze zwischen Bodensatz und Flüssigkeit in F entsteht, wie man sie in den übrigen Gläsern beobachtet. Die Filtration des Inhaltes der Gläser A—E liefert ein absolut klares, farbloses Filtrat, desjenigen von F ein trübes, milchig gefärbtes.

b) Leberzellen.

Die Leber desselben Meerschweinchens wird durch Schaben von Gefässen, Bindegewebssträngen und der Glisson'schen Kapsel befreit und darauf fein zerrieben. Hierauf wird die ausgewaschene Leberzellenemulsion in gleicher Weise verdünnt und zu einem, Versuch a, gleichem Versuche verwendet, der dasselbe Ergebnis hat. Ferner wird der Inhalt der Probegläschen mikroskopiert.

Schon makroskopisch sieht man auf dem Objektträger unter dem Deckgläschen die inselförmige Anordnung des Filterrückstandes von A, während derjenige von F eine homogene Emulsion bildet. Mikroskopisch liegen die Leberzellen bei A kolonieartig zusammen — unter einander verkittet durch strukturlose, zu Grunde gegangene Zellen — mit grösseren Zwischenräumen, bei F einzeln, unter sich gleiche Abstände innehaltend, wie Pflastersteine und ohne Veränderung einzelner Zellen zu zeigen.

c) Nierenzellen.

Es werden die Nieren desselben Tieres ebenfalls zerrieben und 15 ccm dieser blutkörperchenberaubten Emulsion mit 45 ccm physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, worauf die einzelnen 6 Portionen mit den üblichen Giftzusätzen versehen werden.

Nach 20 Stunden ist in Glas A—E vollkommene Agglutination der Zellen eingetreten — scharf getrennt ist Bodensatz und darüberstehende fast farblose Flüssigkeit, — während in F die Nierenzellen sich noch in Suspension befinden. Die Filtration bestätigt aufs Schönste diesen Befund.

d) Gehirnzellen (Hammel).

Frisches Hammelhirn wird von Blut und Blutgefässen befreit, darauf, ganz fein zerrieben, durch Leinwand gepresst und aufs Neue mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Darauf werden 15 ccm dieser Emulsion mit 45 ccm physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und 6 je 10 ccm haltende Portionen geschaffen, welche mit obigen Giftzusätzen versehen werden.

Das Resultat ist ein analoges. Beim Filtrieren liefern Glas A und C ein vollkommen klares, B, D und E ein weniger klares, F ein milchig gefärbtes Filtrat.

Ergebnis: Die in physiologischer NaCl-Lösung suspendierten isolierten Zellen bezw. Zellpartikelchen der einzelnen Organe werden durch die vier Gifte sehr energisch agglutiniert. Am deutlichsten ist die Verklebung bei den isolierten Leberzellen zu beobachten. Wie das mikroskopische Bild in Versuch b zeigt, kommt diese Agglutination ebenfalls durch Verkittung der einzelnen Zellen zu Stande, welch' letztere teils direkt vermittels Veränderung der Form, teils vermittels Zelltrümmer, gewissermassen als Kittsubstanz, bewerkstelligt wird.

Stillmark[1] hat bei seinen Versuchen wohl zu sehr die Wirkung des Ricins auf die Blutkörperchen betont und die auf andere Zellen fast gänzlich in Abrede gestellt.

---

[1] Stillmark, Über Ricin, pag. 99 und 103.

Umgekehrt haben Flexner[1] und Cushny[2] zu sehr die Wirkung des Ricins auf die Leber und Lymphdrüsen und zu wenig die auf die Blutkörperchen berücksichtigt. Die Wahrheit liegt nach meiner Überzeugung in der Mitte; die agglutinierenden Pflanzengifte besitzen die Fähigkeit, sehr verschiedene zelluläre Gebilde des Warmblüterorganismus eigenartig zu verändern und dadurch zum Absterben zu bringen (Gehirn-, Leber-, Nieren-, rote und weisse Blut-Zellen etc.) Alle diese Wirkungen müssen bei der Beurteilung der Gesamtwirkung dieser Gifte mit berücksichtigt werden. Für die Prüfung der Gifte im Laboratorium ist jedoch die Wirkung auf Blut deshalb die wichtigste, weil sie sich am bequemsten ausführen lässt und weil, wenn diese vorhanden ist, auch auf das Vorhandensein der übrigen Wirkungen geschlossen werden darf.

VII. Wirkung der Agglutinine auf gelöste Eiweissstoffe.

In obigen Versuchen handelte es sich um die Agglutination erhaltener, isolierter Zellen. Können nun auch gelöste Eiweissstoffe durch unsere Giftgruppe agglutiniert werden? Dieser Frage dienen die folgenden Versuche.

Versuch No. 32: Menschliches Serum. Je 10 ccm unverdünnter Ascitesflüssigkeit in Glas A mit Zusatz von 1 ccm 1 % Ricin-, in B von 1 ccm 1 % Crotin-, in C von 1 ccm 1 % Abrin-, in D von 1 ccm 5 % Robin-Lösung, in E ohne Zusatz. — Nach 24 Stunden in keinem der Gläser eine Veränderung.

---

[1] Flexner, The Medical News, August 14, 1894.

[2] Cushny, Über das Ricinusgift. Archiv f. experim. Patholog. und Pharmakolog., 41. Bd., pag. 448.

Ergebnis: Im Serum von ascitischer Flüssigkeit wird durch die Agglutinine keine Veränderung hervorgerufen. Dieses Resultat widerspricht den Behauptungen Hellins[1], der im Serum durch Abrin einen Niederschlag erzeugt haben will. Jedoch ist zu berücksichtigen, dass Hellin mit Pferdeserum experimentierte, welches sich vielleicht anders verhält.

Versuch No. 33: Hühnereiweiss.

Das Eiweiss eines Hühnereies wird mit 25 ccm physiologischer NaCl-Lösung innig gemischt, hierauf filtriert. Zu je 10 ccm dieses Filtrates wird in Glas A 1 ccm 1 % Ricin-, in B 1 ccm 1 % Crotinlösung, in C nichts gesetzt.

Nach 24 Stunden in A einzelne unterschwimmende Flocken und ein zarter Niederschlag bemerkbar, in B grössere flockige Gerinnsel und ein stärkerer Niederschlag. — Nach weiteren 24 Stunden in beiden Gläsern diese Befunde noch deutlicher. In C selbst nach 48 Stunden keine Änderung.

Ergebnis: Im Hühnereiweiss wird — entgegen dem Resultate Stillmarks[2] — durch Ricin und Crotin eine der Blutkörperchenverklebung ähnliche Gerinnselbildung hervorgerufen.

Versuch No. 34: Plasmon.

10 g Plasmon (Siebolds Milcheiweiss) werden mit 500 g destilliertem Wasser unter Umrühren gekocht und darauf filtriert. Von diesem Filtrate je 10 ccm in Glas A mit Zusatz von 1 ccm 1 % Ricin-, in B von 1 ccm 1 % Crotinlösung, in C von 1 ccm Abrusextrakt, D als Kontrolle. Die 4 Gläser werden in die Wärmewanne gestellt.

Nach 5 Stunden in Glas A, B und C leicht milchige Trübung, nach 24 Stunden schwimmen in

[1] Hellin, Der giftige Eiweisskörper Abrin, pag. 32—33.
[2] Stillmark, Über Ricin, pag. 99.

Glas A — C inmitten einer serösen Flüssigkeit Klümpchen und Klumpen geronnenen Milcheiweisses, während der Inhalt von D unverändert ist.

Ergebnis: Die Agglutinine wirken also auch auf Plasmonlösung gerinnungserregend.

Versuch No. 35: Da in 11 %iger Chlorammoniumlösung sich Leberzellen zum Teil lösen, lag es nahe, zu prüfen, ob vielleicht gerade der dabei sich lösende Eiweisskörper von den Agglutininen unter Aufhebung seiner Löslichkeit verändert wird. Darüber sollte der folgende Versuch Aufschluss geben. Auflösung von Leberzellen. 10 ccm Meerschwein-Leberzellenemulsion (von Vers. No. 31 b) werden mit 50 ccm 11 % Chlorammoniumlösung geschüttelt. Nach 24stündiger Auflösung wird das Ganze filtriert und je 10 ccm des fast klaren, gelb-grünlichen Filtrates in Glas A—E gefüllt. Zugesetzt wird zu A 1 ccm 1 % Ricin-, zu B 1 ccm 1 % Crotin-, zu C 1 ccm 1 % Abrin-, zu D 1 ccm 1 % Robin-Lösung; zu E 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung.

Nach 1 Stunde in A und C feinste Flöckchen sichtbar; die anderen Gläser ohne Veränderung.

Nach 16 Stunden liegt in A und C ein reichlicher, flockiger Niederschlag am Boden; der Inhalt von B, D und E sieht klar aus. —

Nach weiteren 24 Stunden Status idem.

Ergebnis: Hiermit wird das Agglutinationsvermögen von Ricin und Abrin unserm Verständnis näher gerückt: wir sehen, dass unsere Agglutinine auch für gewisse gelöste Eiweisssubstanzen noch giftig sind, indem sie sie in den unlöslichen Zustand überführen. Ricin wirkt nach Stillmark[1] nicht auf Myosin, das nach Vorschrift von Drechsel dargestellt war. Unsere Versuche lassen sich

[1] Stillmark, Über Ricin, pag. 99.

nicht ohne Weiteres vergleichen, denn Leberzelleneiweiss und Myosin können sich natürlich verschieden verhalten. Weshalb Crotin und Robin in meinem Versuche keine Einwirkung zeigten, das ist mir unklar. Denn wenn deren Wirkung auch in allen Blutversuchen stets eine langsamere war, so hätten sie doch nach 40 Stunden bestimmt eine Veränderung der Flüssigkeit hervorrufen müssen, falls ihnen diese Fähigkeit überhaupt zukommt.

Bei 10 % Fleischsaft „Puro"-, 5 % Nährstoff Heyden-Lösung und 20 % Ovarialkystom-Mucin-Lösung konnte ich weder durch Ricin noch durch Crotin und Abrin Agglutination erzeugen.

VIII. Geht durch Verdauung der Gifte das Agglutinationsvermögen verloren?

Die Frage, ob die Verdauung einen hemmenden resp. vernichtenden, oder überhaupt keinen Einfluss auf die Agglutinine hat, ist vor mir schon von Hellin, Stillmark, Elfstrand und Franz Müller beantwortet worden. So kommt Hellin[1] zu dem Resultate, dass die Pepsinverdauung die Wirksamkeit des Abrins schwäche. Stillmark[2] fand, dass Ricin durch Erwärmen mit Pankreasauszug ganz ungiftig wurde. Dies trat wohl deshalb ein, weil beim Pankreasauszug im Gegensatz zu Pepsin leicht Zerlegung aller Eiweisskörper in Leucin, Tyrosin etc. erfolgt. Elfstrand[3] giebt an, dass künstlicher Magensaft, welcher einen Säuregehalt von 0,4 % HCl, ein anderes Mal von 0,2 % HCl hatte,

---

[1] Hellin, Der giftige Eiweisskörper Abrin, pag. 64.

[2] Stillmark, Über Ricin, pag. 134.

[3] Elfstrand, Über blutkörperchenagglutinierende Eiweisse, pag. 26.

die Wirkung des Crotins vollkommen vernichte. Repin[1] teilt mit, dass keines der Verdauungsfermente auf das Abrin schädigend einwirkt, während Gamaleja[2] das Gegenteil behauptet. Da nun die einzelnen Autoren zu diesen recht verschiedenen Resultaten gelangt sind, so habe ich es für nötig erachtet, auch meinerseits einige diesbezügliche Versuche anzustellen.

In 10 ccm 0,1 % Natriumcarbonat-physiologischer Kochsalzlösung wird 0,1 g Trypsin (Merck) aufgelöst; hierzu werden nach kräftigem Umschütteln 5 ccm Abrusextrakt zugesetzt. Das Ganze wird in die Wärmewanne (35—37 ° C.) gestellt.

In 10 ccm physiologischer NaCl-Lösung wird 0,1 g Papayotin gelöst und dieser Lösung 5 ccm Abrusextrakt zugesetzt, worauf das Glas ebenfalls in die Wärmewanne gestellt wird.

In 10 ccm 0,1 % HCl-physiologischer NaCl-Lösung[3] wird 0,1 g zuckerfreies Pepsin (Witte) gelöst und darauf 5 ccm Abrusextrakt hinzugefügt. Das Ganze kommt in die Wärmewanne.

Darauf werden nach 2tägiger Verdauung des Abrusextraktes durch obige Fermente folgende Versuche angestellt.

Versuch No. 36:

a) 3 % Hundeblut-Kochsalzmischung zu je 10 ccm in Glas A und B. A mit Zusatz von 1 ccm obigen durch Trypsin verdauten Abrusextraktes, B als Kontrollglas.

Nach 15 Minuten in A Agglutination, in B keine Veränderung.

---

[1] Repin, Annales de l'Institut Pasteur, T. IX, pag. 523.

[2] Gamaleja, Compt. Soc. Biolog. 1897, pag. 153.

[3] Diese Lösung wurde in folgender Weise hergestellt: zu 97 ccm 0,1 % HCl-Lösung wurden 3 ccm gesättigter (33 %) NaCl-Lösung gethan. Zu 10 ccm hiervon 0,1 g Pepsin.

b) 3 % Krähenblut-Kochsalzmischung zu je 10 ccm in Glas A mit Zusatz von 1 ccm Trypsin-, in B von 1 ccm Papayotin-, in C von 1 ccm Pepsin-Abrusextrakt, in D ohne Zusatz. — In C sofort, in A und B nach 15 Minuten, in D keine Agglutination.

Versuch No. 37: Nach 3tägiger Verdauung.

a) Je 10 ccm 3 % Froschblut-Kochsalzmischung in Glas A mit Zusatz von 1 ccm Pepsin-, in B von 1 ccm Papayotin-Abrusextrakt, in C ohne Zusatz. — Nach 20 Minuten in A und B Agglutination; Inhalt von C unverändert.

b) Je 10 ccm 3 % Menschenblut-Kochsalzmischung in Glas A, B und C mit gleichen Zusätzen wie in a. — Nach 1 Stunde in A und B Agglutination.

c) Derselbe Versuch mit 3 % Schweineblutkörperchen-Kochsalzmischung. — Nach 2 Minuten in B, nach 5 Minuten in A Klümpchenbildung.

Versuch No. 38: In 10 ccm 0,1 % HCl-physiologischer NaCl-Lösung wird 0,1 g Pepsin. absolut. (Witte) aufgelöst, worauf 5 ccm Ricinusextrakt zugefügt werden. Diese Portion kommt in die Wärmewanne.

Nach 24stündiger Verdauung wird 1 ccm hiervon zu 10 ccm 3 % Hundeblut-Kochsalzmischung gethan. — Nach 7stündiger Einwirkung völlige Agglutination.

Versuch No. 39: Zu 97 ccm 0,2 % HCl-Lösung werden 3 ccm 33 % NaCl-Lösung gegossen und in 10 ccm von dieser Flüssigkeit 0,2 g zuckerfreies Pepsin (Witte) gethan, worauf 5 ccm Abrusextrakt hinzugesetzt werden. Das Glas wird in die Wärmewanne gestellt. Nach 7stündiger Verdauung wird 1 ccm des Giftes zu 10 ccm 3 % Hundeblut-Kochsalzmischung gethan. — Nach 10 Minuten deutliche Agglutination; im Kontrollglas keine Veränderung.

Versuch No. 40:

a) 1 g Robin wird in 10 ccm 0,4 % HCl-Lösung, denen 0,1 g Pepsinum absolut. (Witte) zugesetzt ist, in der Wärmewanne verdaut. Nach mehrtägiger Verdauung wird 1 ccm der Pepsin-Robinlösung zu 10 ccm 3 % Froschblut-Kochsalzmischung gesetzt. Nach 4 Stunden vollkommene Agglutination.

b) Je 10 ccm 3 % Hammelblut-Kochsalzmischung in Glas A mit obigem Zusatz, in Glas B ohne Zusatz. — Nach 6 Stunden in A fast vollständige, in B keine Agglutination.

Ergebnis der Versuche No. 36—40: Mehrstündige bis mehrtägige energische Verdauung von Abrin, Ricin und Robin durch Pepsin, Papayotin und Trypsin in der Wärme schwächt die blutkörperchenagglutinierende Kraft nicht. Nach diesen Versuchen kann ich es also nicht als richtig anerkennen, wenn von F. Müller[1] behauptet worden ist, dass das Ricin durch Verdauung mit Pepsin und Salzsäure seine agglutinierende Wirkung verliere, während die Giftwirkung bestehen bleibe.

IX. Einfluss des Kochens auf die Wirksamkeit der Gifte.

Durch Kochen wird nach Stillmark die Giftwirkung des Ricins zerstört. Cornevin ist es gelungen, das Ricin durch 2stündiges Kochen seiner Lösungen in einen Schutzstoff umzuwandeln, der bei Einspritzung unter die Haut gegen Vergiftung mit Ricinussamen immun macht. Ich selbst habe folgende Versuche angestellt.

Versuch No. 41: Abrusextrakt wird 30 Minuten lang auf dem Wasserbade gekocht.

[1] Franz Müller, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 42, 1899, p. 302.

Je 10 ccm 3 % Schweineblut-Kochsalzmischung in Glas A, B, C und D. Zu A wird 1 ccm Abrusextrakt, zu B 1 ccm gekochtes Abrusextrakt, zu C 1 ccm gekochtes Abrusextrakt, dem nach 5 Minuten langer Einwirkung 1 ccm ungekochtes Abrusextrakt hinzugefügt wird, zugesetzt. D als Kontrolle.

Nach wenigen Minuten tritt in A und C die Agglutination ein. In kurzer Frist liegen in C die siegellackfarbenen Klümpchen am Boden, eine vollkommen farblose Flüssigkeit über sich lassend. — In B nach 12 Stunden unvollkommene, in D keine Klümpchenbildung. Bei der Filtration liefert A und C ein farbloses, B ein rötliches Filtrat. Der Inhalt von D passiert unverändert das Filter.

Versuch No. 42: 1 % Ricin-, 1 % Crotin-Lösung, Abrus- und Ricinusextrakt werden 6 Stunden auf dem Wasserbade gekocht.

Zu je 10 ccm 3 % Schweineblut-Kochsalzmischung wird in Glas A 1 ccm gekochte Ricinlösung, in B 1 ccm gekochte Crotinlösung, in C 1 ccm gekochtes Abrus- und in D 1 ccm gekochtes Ricinusextrakt gesetzt. Nach 5 Minuten langem Umschütteln wird zu den einzelnen Gläsern je 1 ccm des gleichen, ungekochten Giftes hinzugefügt.

Nach mehreren Minuten tritt in allen Gläsern Agglutination ein.

Ergebnis der Versuche No. 41—42. Durch Kochen wird die Wirksamkeit des Abrins bedeutend herabgesetzt. Bei ½ und 6 Stunden langem Kochen tritt Bildung eines Gegengiftes des Ricin, Crotin und Abrin im Reagensglase nicht ein.

X. Sind dem Blute zugesetzte Gifte im Serum oder in den Blutkörperchen wiederzufinden?

Wenn man eine Einspritzung einer wirksamen Substanz ins Blut vornimmt, wird dieses Gift dann nur im Serum, vielleicht an einen Eiweissstoff gebunden, oder wird es auch in den Blutkörperchen enthalten sein? Da wir nun in den Agglutininen ein Mittel besitzen, um Serum und Blutkörperchen von einander zu trennen, so liegt der Gedanke sehr nahe, Blut extra corpus mit einem Gift zu versetzen und nach einigen Stunden Serum und Blutkörperchen statt durch Zentrifuge mittelst unserer Mittel von einander zu scheiden und gesondert auf das betreffende Gift hin zu untersuchen. Derartige Versuche habe ich zur Orientierung über diese Frage mit verschiedenen Blutarten und Giften gemacht; ich teile sie nachstehend mit.

Versuch No. 43: Zu 10 ccm Schweineblut wird 1 ccm 1 % Lösung von Strychninnitrat und darauf 89 ccm physiologischer Na Cl - Lösung gesetzt. Nachdem das Strychnin 3 Stunden lang auf die Blut-Kochsalzmischung eingewirkt hat, werden 15 ccm Abrusextrakt hinzugefügt. Sobald die Agglutination vollständig ist (nach 30 Minuten) wird das Gemisch filtriert. Es werden 100 ccm schwach hellroten, klaren Filtrats erzielt; der Filterrückstand von agglutinierten Blutkörperchen bildet eine siegellackfarbene Masse und wird mit destilliertem Wasser ebenfalls auf 100 ccm gebracht, worin er sich natürlich nicht ganz löst, wohl aber sein Hb abgiebt. Es wurde gehofft, dass das Strychnin, wenn es in der siegellackartigen Masse enthalten war, bei der Extraktion des Hb mit in Lösung gehen würde, und dass nur das Stromafibrin ungelöst bleiben würde. Nach 1 Stunde langer Extraktion wurde filtriert.

Dieses Filtrat (b) musste nun alles in den Blutkörperchen gewesene Strychnin enthalten, während alles im Serum gebliebene Strychnin im Filtrat (a) enthalten sein musste.

Jetzt erhält Frosch I subcutan 1 ccm des Filtrates a, ein gleich grosser Frosch II 1 ccm des Filtrates b.

Nach 30 Minuten zeigt Frosch I gesteigerte Reflexerregbarkeit; nach 1 Stunde treten auf äussere Reize hin Streckkrämpfe der hinteren Extremitäten auf. Bei Frosch II nach 1 Stunde keine Vergiftungserscheinungen.

Nach 4 Stunden bei Frosch I auf die geringsten Reize hin Streckkrämpfe, bei Frosch II keine Änderung.

Nach 6 Stunden liegt Frosch I mit gestreckten unteren und krampfartig starren oberen Extremitäten im Opisthotonus auf dem Rücken und es lassen sich durch minimale Reize Schreikrämpfe auslösen, während Frosch II munter ist.

Nach 20 Stunden hat sich Frosch I fast ganz erholt, Frosch II zeigt ungestörtes Wohlbefinden.

Zwecks chemischen Nachweises des Strychnins wird die Gesammtmenge des noch vorhandenen Filtrates a und b unter Hinzufügen einiger Tropfen verdünnter Essigsäure aufgekocht und darauf filtriert. Von diesen beiden Filtraten werden je 50 ccm auf dem Wasserbade eingedampft.

Nach 24 Stunden wird der Rückstand von a und b mit je 10 ccm Alkohol 1 Minute lang gekocht und darauf filtriert; hernach werden beide Filtrate wieder eingedampft. Beide Rückstände werden unter Hinzufügung je 1 Tropfens einer äusserst verdünnten (2 Tropfen verdünnter Salzsäure auf 25 ccm Aqu. dest.) Salzsäure in je 10 ccm destilliertem Wasser aufgelöst und wieder filtriert.

Das schwach gelbliche Serum-Filtrat a besitzt einen intensiv bitteren Geschmack, das farblose Blutkörperchen-Filtrat ist geschmacklos. Mit beiden Filtraten werden nun folgende Proben angestellt:

Sie erhalten einen Zusatz von

1) Pikrinsäure, worauf bei
   a. ein trüber, wolkiger Niederschlag,
   b. keine Veränderung auftritt;
2) Kalium-Wismutjodid, wonach bei
   a. eine flockige Ausfällung,
   b. nichts eintritt;
3) nach Ansäuerung mit verdünnter Schwefelsäure Jodkalium-Quecksilberjodid, worauf bei
   a. ein Niederschlag,
   b. nichts auftritt;
4) nach Hinzufügung eines Tropfens verdünnter Schwefelsäure, Phosphor-Wolframsäure, wonach sich bei
   a. ein reichlicher trüber Niederschlag,
   b. nichts bildet.

Nach 24 Stunden sind alle Reaktionen noch deutlicher. Krystalle sind makro- und mikroskopisch nicht zu entdecken.

Ergebnis: Es ist also durch die chemischen Reaktionen, wie auch durch die Vergiftungserscheinungen bei Frosch I zur Genüge bewiesen, dass das Strychnin lediglich im Serum und nicht in den Blutkörperchen sich befand.

Versuch No. 44: 10 ccm Kalbsblut werden mit 1 ccm einer 0,1 % Lösung von Atropin. sulfur. und 89 ccm physiologischer NaCl-Lösung gemischt. Nach 3 Stunden werden dieser Flüssigkeit 15 ccm Abrusextrakt hinzugefügt. Sobald nach 30 Minuten die Blutkörperchen am Boden liegen, wird das Ganze auf das Filter gebracht. Nach 20 Stunden wird der siegellackartige Filterrückstand b von agglutinierten

Blutkörperchen mit 104 ccm — der gleichen Flüssigkeitsmenge wie das gewonnene Filtrat a — destilliertem Wasser aufgelöst. Flüssigkeiten a und b werden unter Ansäuerung mit einigen Tropfen sehr verdünnter Essigsäure aufgekocht, filtriert und dann auf dem Wasserbade eingedampft. Die Verdampfungsrückstände werden mit je 10 ccm Alkohol 1 Minute lang aufgekocht und darauf filtriert; beide Filtrate werden auf's Neue eingedampft. Die Rückstände werden in je 10 ccm destilliertem Wasser + 1 Tropfen einer stark verdünnten Salzsäure aufgelöst und dann wieder filtriert.

Jetzt werden je 3 Tropfen von Filtrat a Kaninchen I, von Filtrat b Kaninchen II in den linken Conjunktivalsack eingeträufelt.

Nach 4 Stunden bei Kaninchen I geringe Pupillenerweiterung, bei Kaninchen II nicht.

Filtrat a und b werden chemisch weiter untersucht. Es wird hinzugesetzt:

1) Pikrinsäure, wonach bei
   a. eine zarte Trübung,
   b. nichts auftritt;
2) Jodkalium, wonach bei
   a. eine leichte Ausfällung,
   b. nichts eintritt;
3) nach Ansäuerung mit verdünnter Schwefelsäure Phosphor-Molybdänsäure, worauf bei
   a. ein starker, wolkiger Niederschlag,
   b. nichts auftritt;
4) nach Ansäuerung mit verdünnter Schwefelsäure Jodkalium-Quecksilberjodid, wonach sich bei
   a. eine Trübung,
   b. nichts bildet.

Ergebnis: Atropin war ausschliesslich im Serum nachweisbar.

Versuch No. 45: Zu 10 ccm Schweineblut werden 90 ccm physiologischer Na Cl-Lösung, in denen 0,1 g Caesiumchlorid (Cs Cl) aufgelöst ist, gesetzt und beides tüchtig gemischt. Nachdem das Cs Cl 15 Stunden Zeit gehabt hat, sich auf das Blut zu verteilen, werden 15 ccm Abrusextrakt hinzugegossen und nach weiteren 3 Stunden wird das Ganze filtriert. Es werden hierbei 100 ccm hellrotes, klares Filtrat a erzielt. Der siegellackartige Blutkörperchenniederschlag wird in 100 ccm destilliertem Wasser, soweit es geht, aufgelöst, b. Jetzt wird die Flüssigkeit a sowohl, wie b unter Zusatz einiger Tropfen verdünnter Essigsäure aufgekocht und, sobald sich eine reichliche Eiweissausscheidung gebildet hat, von Neuem filtriert. Filtrat a und b, je 80 ccm, werden eingedampft; die Verdampfungsrückstände werden darauf verascht. Die Blutkörperchenasche von Filtrat b wird anfangs mit 2 ccm destilliertem Wasser und darauf mit der gleichen Quantität salzsauren Wassers ausgelaugt, aber in keiner der beiden Flüssigkeiten lässt sich, trotzdem sie auf wenige Tropfen eingedampft waren, spektroskopisch Caesium erkennen. Schon die Asche von Filtrat a (Serum) lässt im Spektrum die blaue Caesiumlinie — bei 31 — deutlich erkennen.

Ergebnis: Caesium findet sich lediglich im Serum wieder.

Versuch No. 46: 10 ccm Kalbsblut werden mit 88 ccm physiologischer Na Cl-Lösung und 2 ccm 1 % Lösung von Natrium salicylicum, denen 1 Tropfen gesättigter Kochsalzlösung zugesetzt ist, gemischt. Nachdem das salicylsaure Natron 24 Stunden auf die Blut-Kochsalzmischung eingewirkt hat, werden zu 75 ccm der Mischung (25 ccm gingen durch ein Missgeschick verloren) 15 ccm Ricinusextrakt zugegossen. Nach vollendeter Agglutination wird

filtriert, wobei 73 ccm fast farblosen Filtrates a gewonnen werden. Der Blutkörperchen-Filterrückstand b wird in 73 ccm destilliertem Wasser, soweit möglich, aufgelöst und ebenso, wie Filtrat a, eingedampft. Der Verdampfungsrückstand von a und derjenige von b wird mit je 25 ccm Alkohol, denen 1 Tropfen verdünnter Salzsäure zugesetzt ist, 24 Stunden extrahiert, worauf wieder filtriert wird. Beide Filtrate werden von Neuem eingedampft und darauf in je 10 ccm destilliertem Wasser, denen 1 Tropfen Natriumcarbonat zugesetzt ist, aufgelöst.

Zum chemischen Nachweis des salicylsauren Natriums erhält das Serumextrakt a und das Blutkörperchenextrakt b einen Zusatz von je 1 Tropfen Eisenchlorid, worauf a sofort eine schöne violette Färbung[1] zeigt, die bei b nicht eintritt.

Ergebnis: Das salicylsaure Natrium ist nur im Serum wiederzufinden und nicht in den Blutkörperchen.

Versuch No. 47: Zu 10 ccm Schweineblut werden 89 ccm physiologischer NaCl-Lösung und 1 ccm 1% Codeinphosphatlösung, welcher 1 Tropfen gesättigter Kochsalzlösung zugesetzt ist, gegossen. Nachdem das Codein 18 Stunden lang Zeit gehabt hatte, sich auf Serum und Blutkörperchen zu verteilen, werden 25 ccm Abrusextrakt zugesetzt, worauf nach vollständiger Agglutination filtriert wird. Es werden 112 ccm Filtrates erzielt, welches dieses Mal leider nicht farblos, sondern rot war, weil sich eine Anzahl Blutkörperchen aufgelöst hatte. Der Blutkörperchen-Niederschlag wird in der gleichen Quantität destillierten Wassers aufgelöst, wonach

[1] Ladenburg, Handwörterbuch der Chemie, Bd. X, pag. 350. Nachweis: „Die Salicylsäure giebt mit verdünnter Eisenchloridlösung eine violette Färbung."

Filtrat A sowohl, wie Blutkörperchen-Auflösung B eingedampft werden. Hierauf wird der Verdampfungsrückstand von A = a und von B = b mit 10 ccm Alkohol kalt, darauf nochmals mit 10 ccm siedendem Alkohol extrahiert, wonach auf's Neue eingedampft wird. Der so gewonnene Rückstand wird in je 10 ccm destilliertem Wasser aufgenommen und zum Nachweis des Codeins folgendermassen verfahren:

Es wird Phosphormolybdänsäure zugesetzt, wonach bei dem Serumextrakt a ein voluminöser Niederschlag, bei dem Blutkörperchenextrakt b nichts eintritt.

Nach Eindampfen erhalten beide Extrakt-Rückstände einen Zusatz von 1 Tropfen Eisenchlorid-schwefelsäure, worauf bei a eine deutliche Blaufärbung auftritt, die bei b fehlt.

Ergebnis: Das Codein war nur im Serum nachzuweisen.

Versuch No. 48: Es werden zu 10 ccm Schweineblut 89 ccm physiologischer NaCl-Lösung und 1 ccm 1 % Lösung von Morphinum sulfuricum, dem 1 Tropfen gesättigter NaCl-Lösung zugefügt ist, gegossen. Hierauf wird in derselben Weise wie in Versuch No. 47 verfahren.

Zum Nachweis des Morphiums wird zu a (Serum) und b (Blutkörperchen) je 1 Tropfen Eisenchlorid gethan, worauf a eine Grünlich-blau-Färbung, b keine Reaktion giebt.

Ergebnis: Das Morphium war also allein im Serum wiederzufinden.

Versuch No. 49: Derselbe Versuch mit Zusatz von 1 ccm 1 % Antipyrinlösung.

Um das Antipyrin nachzuweisen, wird nach derselben Verarbeitung, die oben angegeben ist, zu

den gereinigten Extrakten der Blutkörperchen und des Serums je 1 Tropfen Eisenchlorid gesetzt, wonach bei a Rotbraunfärbung, bei b keine Veränderung eintritt.

Ergebnis: Es geht das Antipyrin nur in das Serum über.

Versuch No. 50:

a) Zu 9 ccm frischen Schweineblutes wird 1 ccm der noch 4fach verdünnten Stuart'schen Lösung, d. h. halbcitronensaures Kobaltoxydul-Natrium, welche pro ccm 1,3 mg Co enthielt, gesetzt und diese volle 20 Stunden auf das Blut einwirken lassen. Darauf werden 90 ccm physiologischer NaCl-Lösung hinzugegossen und bald darnach die völlige Agglutination durch 40 ccm Abrusextrakt bewirkt. Hierauf wird die Blut-Kochsalzmischung auf das Filter gebracht und der Filterrückstand mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Das hierbei gewonnene, fast farblose Filtrat a wird auf dem Wasserbade eingedampft, der Filterrückstand b im Trockenschrank getrocknet, worauf beide Trockenrückstände verascht werden. Beim Schmelzen mit der Boraxperle liefert die Serumasche a eine intensive Blaufärbung, die Blutkörperchenasche b bewirkt keine Blaufärbung.

b) Derselbe Versuch mit frischem Hühnerblut und gleichem Resultat, d. h. in dem Serum sehr starke Blaufärbung und in der Blutkörperchenasche nur spurweise Blaufärbung.

Ergebnis: Kobalt war also nur im Serum und nicht in den Blutkörperchen wiederzufinden.

Ergebnis der Versuche No. 43—50: Wie schon oben erwähnt, sollten vorstehende Versuche nur eine Orientierung geben über die Frage der Verteilung von Giften auf Serum und Blutkörperchen. Es hat sich das bemerkenswerte Ergebnis herausgestellt, dass alle unter-

suchten Alkaloide, d. h. Morphin, Codein, Atropin und Strychnin, ferner das künstliche Alkaloid Antipyrin, sowie die Salicylsäure, das Caesium und das Kobalt, sich ausschliesslich im Serum und garnicht in den Blutkörperchen nachweisen liessen. Dieses erscheint auf den ersten Blick sehr unwahrscheinlich; denn wenn man ein mit obigen Giften versetztes Blut durch Centrifugieren in Serum und Blutkörperchen trennen würde, unterliegt es wohl keinem Zweifel, dass die genannten Gifte sich auch in den Blutkörperchen wenigstens spurweise finden würden. Warum ist dieses in unseren Versuchen nicht der Fall? Darauf kann man mehrere Antworten geben. Nach einer Auffassung müssen wir uns die roten Blutkörperchen als kleine schwammartige Gebilde vorstellen, welche mit den im Serum enthaltenen Stoffen auf dem Wege der Diffusion oder sonstwie durchtränkt sind. Unter Einwirkung unserer Agglutinine erleidet, wie das Mikroskop zeigt, die Gestalt der Blutkörperchen eine wesentliche Schrumpfung, so dass wir sie wohl am besten mit ausgepressten Schwammstückchen vergleichen können. Bei diesem Prozess der Schrumpfung werden offenbar alle nur durch Diffusion im Blutkörperchen enthaltenen Stoffe ausgepresst und die chemische Untersuchung der siegellackartigen Massen der agglutinierten Blutkörperchen ergiebt nur die dem Blutkörperchen zukommenden Stoffe, nicht aber die nur physikalisch dasselbe durchtränkenden.

Vielleicht ist noch eine andere Erklärung zulässig, welche einem Anhänger der Serumtherapie nicht unplausibel erscheinen mag. Nach dieser werden alle ins Blut gelangten gelösten Gifte durch die Schutzstoffe des

Serums mit Beschlag belegt und können daher nur im Serum gefunden werden.

Noch eine dritte Auffassung ist möglich. Pohl[1] kommt auf Grund hier nicht näher anzuführender Versuche zu dem Ergebnis, dass es eine Form der Immunisierung der roten Blutkörperchen giebt, wodurch diese die Fähigkeit erlangen, Giftstoffe, welche im Plasma resp. Serum gelöst sind, nicht in sich hineindringen zu lassen. Aus meinen Versuchen scheint mir hervorzugehen, dass die roten Blutkörperchen schon an sich, auch ohne vorherige Immunisierung, eine gewisse Widerstandskraft gegen das Eindringen gewisser gelöster fremder Substanzen besitzen. Wären die Blutkörperchen nur schwammartig mit Haemoglobin durchtränktes Stroma, so wäre ein solches Sichwehren gegen fremde Substanzen undenkbar; fasst man sie aber mit Hoppe-Seyler und Prof. Kobert als aus einer einheitlichen Substanz, nämlich aus Arterin bezw. Phlebin bestehend auf[2], so wird es viel verständlicher, dass diese Substanz die Fähigkeit besitzt, gelöste, an sich indifferente Stoffe nicht aufzunehmen. Nur solche Substanzen, welche das Arterin zersetzen, wie Chloroform oder die Saponinsubstanzen, dringen ein und töten dabei das Blutkörperchen ab.

Falls die erste Annahme die richtige ist, gebührt unserer Methode bei der Scheidung von Serum und Blutkörperchen zum Zweck chemischer Untersuchung vor der gewöhnlich üblichen Trennung mittels Zentrifuge der Vorzug. Aber auch wenn die anderen Anschauungen zu Recht bestehen, ist die Abscheidung der Blutkörperchen nach unserer Methode keineswegs wertlos.

---

[1] J. Pohl, Über Blutimmunität. Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. VII, 1900, p. 1—9.

[2] Vergleiche H. U. Kobert, Über das mikrokristallographische Verhalten des Wirbeltierblutes, Leipzig 1900.

Zum Schlusse sei mir noch gestattet, erstens auf eine eben erst erschienene ausführliche Auseinandersetzung von P. Ehrlich über Toxine und Antitoxine[1] aufmerksam zu machen, da dieselbe sich auch auf die Theorie der Wirkung der pflanzlichen Agglutinine mit erstreckt. Es würde zu weit führen, den Inhalt, welcher keineswegs leicht wiederzugeben ist, hier zu referieren. Nur soviel sei gesagt, dass erst durch Ehrlich's Ausführungen ein wahres Verständnis der Theorie der Wirkung unserer Stoffe gegeben ist. Zweitens sei darauf hingewiesen, dass soeben, als meine Arbeit schon fast fertig gedruckt war, in der Apotheker-Zeitung, Jg. 1901, Nr. 41, eine Mitteilung von E. Schmidt erschien, in welcher dieser Forscher einen nicht zu den Eiweissen gehörigen krystallinischen Stoff, Robinin genannt, beschreibt. Man wird daraus ersehen, wie zeitgemäss es war, unsern Giftstoff aus der Robinie in Robin umzubenennen.

[1] P. Ehrlich, Über Toxine und Antitoxine. Therapie der Gegenwart, Mai 1901, pag. 193.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Kobert für die Anregung zu vorliegender Arbeit und die liebenswürdige Unterstützung bei derselben meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Curriculum vitae.

Am 17. März 1876 wurde ich, Carl Max Albert Lau, zu Tessin in Mecklenburg-Schwerin geboren. Von Ostern 1882 bis Ostern 1888 besuchte ich, evang.-luther. Konfession, die Stadtschule meines Heimatortes und siedelte darauf über auf das Gymnasium zu Doberan, welches ich Ostern 1895 mit dem Zeugnis der Reife verliess, um Medizin zu studieren. Die ersten beiden Semester studierte ich in Tübingen, dann von S. S. 1896 bis S. S. 1897 in Rostock, hierauf von W. S. 1897/98 bis S. S. 1898 in Berlin, um dann zur Vollendung meines Studiums nach Rostock zurückzukehren. Hier erlangte ich am 23. Februar 1900 die Approbation als Arzt. Seit dem Mai 1900 bin ich in meiner jetzigen Stellung als Assistenzarzt an der Universitäts-Frauenklinik thätig.